

5-DEAZAFLAVINIUM-SALZE

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
im
Fachbereich Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Werner Bauch
aus Etzen

Berlin 1977



Digitized by the Internet Archive
in 2026

5-DEAZAFLAVINIUM-SALZE

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
im
Fachbereich Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Werner Bauch
aus Etzen

Berlin 1977



1. Gutachter : Prof.Dr. H. Fenner

2. Gutachter : Prof.Dr. R. Hänsel

Tag der mündlichen Prüfung: 16-06-77

Meinen Eltern
in Liebe und Dankbarkeit
gewidmet

Die vorliegende Arbeit wurde am Pharmazeutischen
Institut der Freien Universität Berlin auf
Anregung und unter Leitung von Prof.Dr.H. Fenner
durchgeführt.

Herrn Prof.Dr.H. Fenner gilt mein Dank für die
Überlassung des Themas und für seine wertvolle
und großzügige Hilfe während meiner Doktorandenzeit.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. Einleitung	1
1.1. Strukturelle Modifikationen des Flavin-Systems	1
1.2. 5- Deazaflavine	
" Flavin- und Nicotinamid-Modelle "	3
2. Synthese und Charakterisierung des 1,3,10-Tri- methyl-deazaflavinium-perchlorats	7
2.1. Synthesen von 5-Deazaflavinen	7
2.2. Synthese des 1,3,10-Trimethyl-deazaflavinium- perchlorats	11
2.3. Charakterisierung des 1,3,10-Trimethyl-deaza- flavinium-perchlorats	22
2.3.1. ^1H -NMR-Untersuchungen	22
2.3.2. IR-spektroskopische Untersuchungen	25
2.3.3. Massenspektroskopische Untersuchungen	28
2.3.4. Elektronenspektroskopische Untersuchungen	33
3. Untersuchungen der Redoxaktivität des 1,3,10- Trimethyl-deazaflavinium-kations	36
3.1. Synthese und Charakterisierung des 5,10-Dihydro- 1,3,10-trimethyl-deazaflavins	37
3.1.1. IR-spektroskopische Untersuchungen	40
3.1.2. Elektronenspektroskopische Charakterisierung von Dihydro-deazaflavinen	42
3.2. Reaktionen des 1,3,10-Trimethyl-deazaflavinium- kations mit komplexen Metallhydriden	46

3.3. Reaktionen mit Sulfit und Dithionit	49
4. Reaktionen des 1,3,10-Trimethyl-deazaflavinium-	
kations mit nucleophilen Reagentien (OH^- , R-OH, NH-R_2)	53
4.1. Reaktion mit OH^-	57
4.2. Reaktionen mit Alkoholat	64
4.3. Reaktionen mit Aminen	67
5. Reaktionen des Deazaflavinium-kations mit	
Carbanionen	76
5.1. Addition von Nitromethan	77
5.2. Addition von Methylketonderivaten	80
5.3. Reaktionen mit Cyanid	83
5.4. Reaktionen mit N,N-Dimethylanilin	87
6. Photochemische Reaktivität des Deazaflavinium-	
kations	90
7. Synthese und Eigenschaften von Pyrimido-chinolonen	99
7.1. Synthese von Pyrimido-chinolonen	101
7.2. Elektronenspektren der Pyrimido-chinolone <u>40a-c</u>	102
7.3. Reduktionsreaktionen mit Pyrimido-chinolonen	109
7.4. Reaktionen mit CH-aciden Verbindungen	111
8. Zusammenfassung	114
9. Experimenteller Teil	116
10. Literaturverzeichnis	138

1. Einleitung

Schon in den frühen dreißiger Jahren gelang es Hugo Theorell¹⁻⁴⁾ mit dem " Alten Gelben Enzym ", das erste Enzym reversibel in Coenzym und Apoprotein zu spalten. P. Karrer⁵⁾ klärte die Struktur des Coenzym durch die Synthese eines Vitamin B₂-Phosphats auf. Kuhn und Mitarbeiter^{6,7)} berichteten über erste chemische Studien, während Warburg und Christian⁸⁾ die biochemischen Grundlagen beschrieben.

Nachdem durch diese fundamentalen Entdeckungen die herausragende Stellung des Flavins als Naturstoff und ubiquitärer Redox-Cofaktor in allen biologischen Redoxketten begründet war, begann man durch Detailuntersuchungen der biologischen Relevanz des Flavins Rechnung zu tragen.

1.1. Strukturelle Modifikationen des Flavinsystems

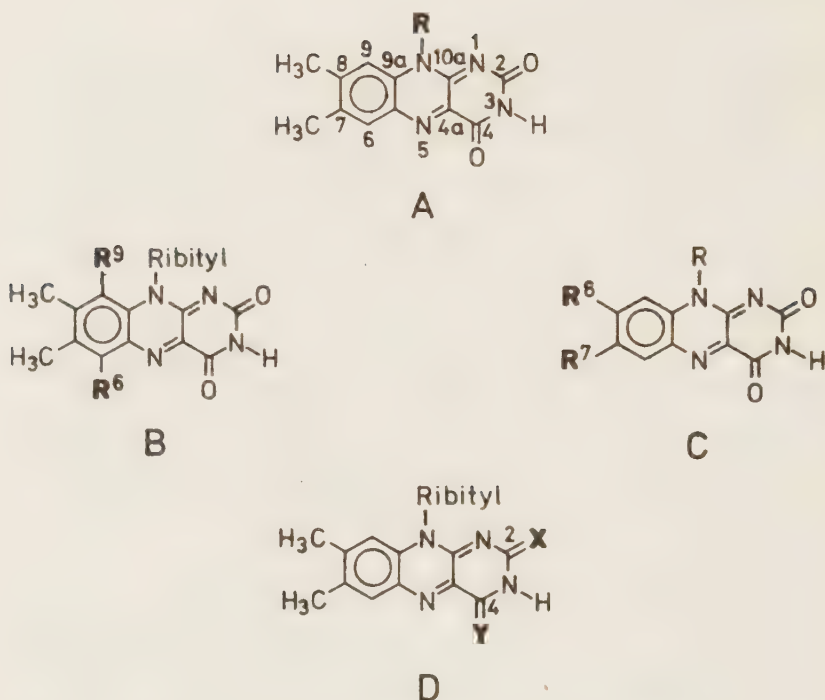
Bei der Suche nach wirksamen Antimetaboliten wurde das Flavin im wesentlichen in folgenden Positionen modifiziert (Schema 1):

A. Veränderung der N(10)-Ribityl-Seitenkette im Sinne einer Substitution durch Hydroxyalkylreste sowie Einführung basischer Seitenketten^{10,11)}.

B. Substitution von H(6) und H(9)¹²⁻¹⁴⁾.

C. Austausch der 7- und 8-ständigen Methylgruppen, z.B. durch Chlor¹⁵⁻²⁰⁾.

D. Variation der 2- und 4-Position des Pyrimidin-Teilkerns, z.B. durch Einführung von Thioketo- und Imino-Gruppen^{21,22)}.



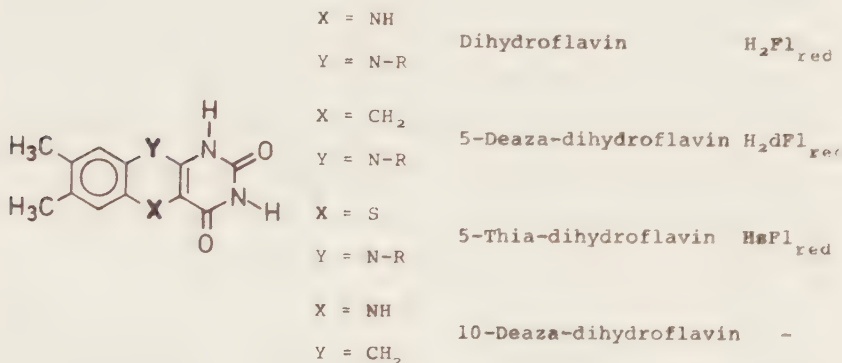
Schema 1: Strukturelle Modifikationen des Flavinsystems

Durch diese Abwandlungen erfolgte keine Veränderung des für die Redox-Eigenschaften des Flavins maßgeblichen zentralen Pyrazin-Teilkerns.

Dies gelang durch Modifikation der Heteroatome in 5- bzw. 10-Position des Flavins: N(5)-Austausch durch Schwefel führt zu 5-Thiaflavinen²³⁻²⁵), N(10)-Austausch durch Kohlenstoff zu 10-Deazaflavinen²⁶) und N(5)-Substitution zu den

5-Deazaflavinen^{27,28)}.

In diesen Verbindungen ist das für die Redox-Eigenschaften relevante Strukturelement in spezifischer Weise verändert worden.

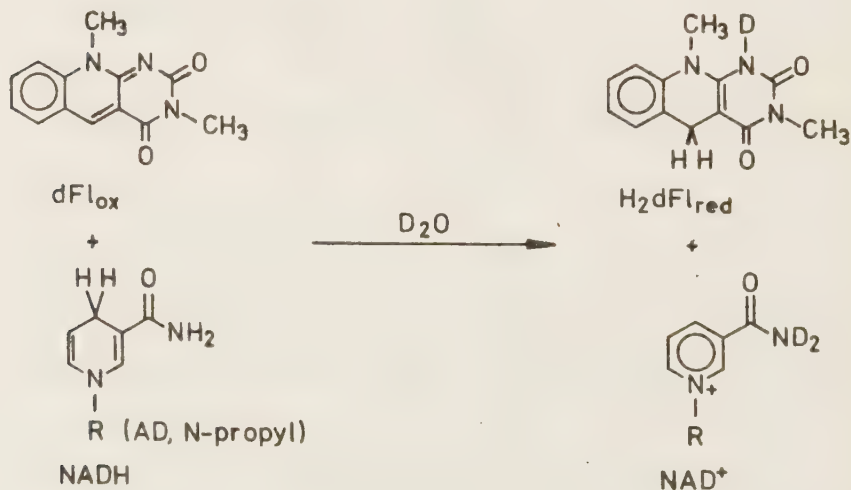


1.2. 5-Deazaflavine

" Flavin und Nicotinamid Modelle "

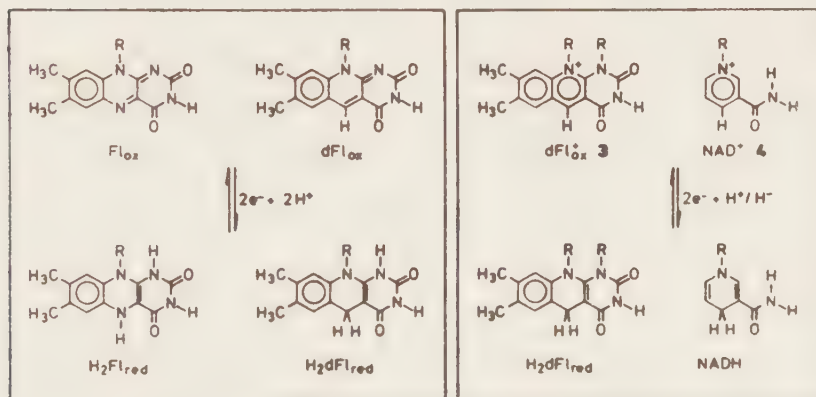
Die herausragende Stellung des Flavins als Redoxkatalysator liegt in der Tatsache begründet, daß es thermodynamisch reversibel zu Ein- und Zwei-Elektronen-Transfer befähigt ist. Dies beinhaltet sowohl die schrittweise Ein-Elektronen-Oxidoreduktion, wie sie biologisch ausschließlich im Ubichinon erfolgt, als auch den Nicotinamid-analogen Zwei-Elektronenschritt der Hydridübertragung. Aufgrund dieser Fähigkeit kommt dem Flavin die Funktion einer Umschaltstelle zwischen Hydrid- und Elektronen-Transfer zu.

In einigen Flavoproteinen lassen sich unter Erhalt der (de)hydrierenden Aktivität die natürlichen Flavine (Fl_{ox}) durch 5-Deazaflavine (dFl_{ox}) ersetzen. Allerdings beschränkt sich die katalytische Funktion der 5-Deazaflavine, durch das Fehlen einer biologisch relevanten Flavosemichinon-analogen Radikalstufe auf den Zwei-Elektronen-Transfer²⁹⁻³⁴). Diese spezifische Fähigkeit weist die 5-Deazaflavine als Nicotinamid-analoga mit flavinähnlicher Struktur aus^{29,34-38}). Die Verwandtschaft von dFl_{ox} und NAD wird durch eine Vielzahl experimenteller Daten belegt, z.B. durch die Fähigkeit zur Aufnahme eines Hydridäquivalents aus NADH ³⁷):



Die Fähigkeit des Flavinsystems zur kovalenten Fixierung nucleophiler Substrate wird durch Blockierung, infolge Substitution von N(1) und N(5), spezifisch verändert (39-44).

Auch im Deazaflavin sollte durch eine entsprechende Strukturvariation die Elektrophilie der Positionen 5 und 10a steuerbar sein. Eine Alkylsubstitution an N(1) sollte im oxidierten Zustand die Additionsfähigkeit erhöhen, wobei das System, wie aus einem Strukturvergleich (Schema 2) hervorgeht, einen noch ausgeprägteren Nicotinamid- Charakter annimmt.



Schema 2: Strukturvergleich zwischen Fl_{ox}, dFl_{ox}, dFl_{ox}⁺, NAD⁺

Verglichen mit dFl_{ox} liegt im Deazaflaviniumkation (dFl_{ox}^+) ein für die Aufnahme von nucleophilen Substraten reaktiveres System vor. Dadurch sollte sich die für die Flavinkatalyse relevante Frage der Fixierung solcher Reaktionspartner-Ort und Stabilität der Bindung- hier vergleichsweise leichter untersuchen lassen.

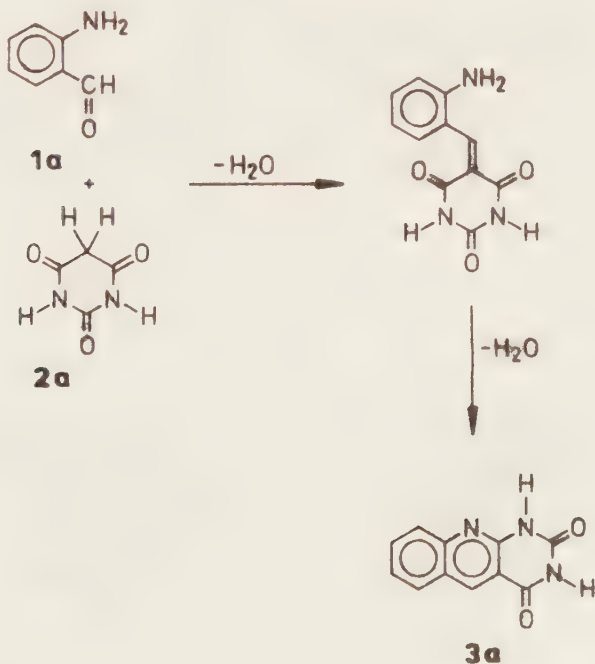
Ziel der vorliegenden Dissertation war es, in N(1,3,10) blockierte Deazaflavine zu synthetisieren, ihre Struktur und die Reaktivität gegenüber nucleophilen Reaktionspartnern zu untersuchen, sowie ihre spektralen Eigenschaften im Vergleich zu anderen Deazaflavinen und Flaviniumkationen zu erfassen.

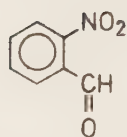
2. Synthese und Charakterisierung des 1,3,10-Trimethyl- deazaflavinium-perchlorats

2.1. Synthesen von 5-Deazaflavinen

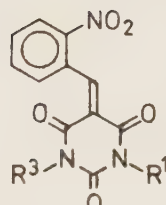
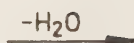
Das Ringsystem der 5-Deaza-alloxazine bzw. -isocalloxazine ist aus verschiedenartigen Vorstufen zugänglich:

Aus Benzyliden-barbitursäuren^{27,28,45)}, aus Isatinderivaten⁴⁶⁾, aus Tetrahydro-chinolonen⁴⁷⁾ sowie aus Aminourazilen^{48,49,50)}. Conrad und Reinbach⁴⁵⁾ synthetisierten bereits 1901 durch Kondensation von Anthranilaldehyd (1a) mit Barbitursäure (2a) das 5-Deaza-alloxazin (3a).

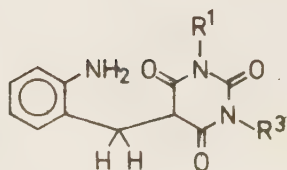




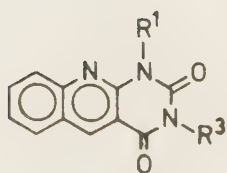
4



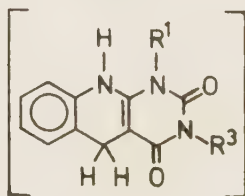
5



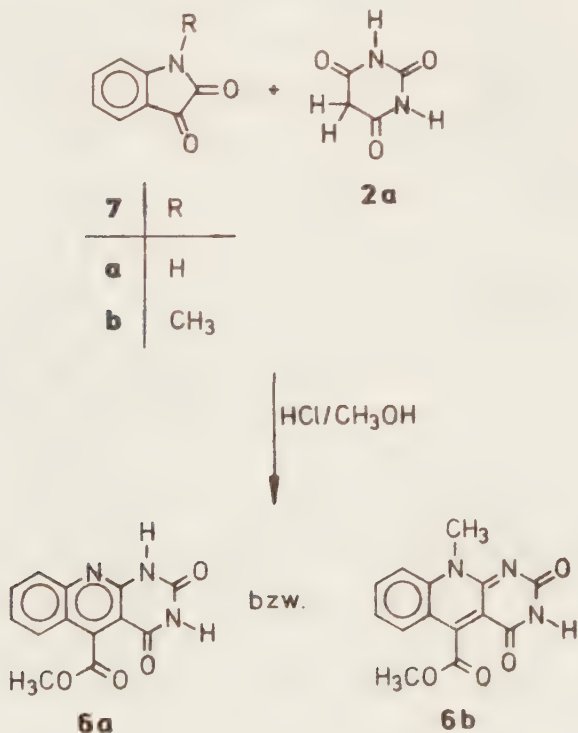
2, 3, 5	R^1	R^3
a	H	H
b	CH_3	CH_3



3

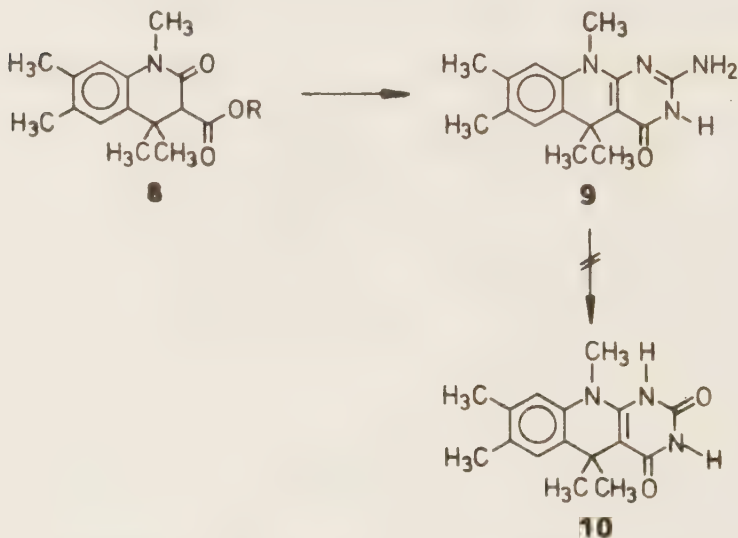


O'Brien, Weinstock und Cheng²⁷⁾ beschrieben eine Abwandlung dieses Syntheseweges, durch die 5-Deaza-isoalloxazine zugänglich werden. Fenner und Michaelis²⁸⁾ erhielten 5-Deaza-alloxazine (3) und deren N-Alkylderivate aus den durch Kondensation von 2-Nitrobenzaldehyd (4) mit Barbitursäuren 2 dargestellten 2-Nitro-benzyliden-barbitursäuren 5, deren Reduktion und Cyclisierung die Dihydrostufe von 3 liefert. In einer reversiblen Reaktion entstehen daraus die Lumichrom-analogen Deazaflavine 3a,b.



King, King und Thompson⁴⁶⁾ gelang es, in 5-Position substituierte 5-Deaza-alloxazine (6a) sowie 5-Deaza-isoalloxazine (6b) herzustellen.

Versuche von Reist et al.⁴⁷⁾ ein 5-blockiertes Deazaflavin 10 über Tetrahydro-2-chinolone 8 darzustellen, führten zu einem von den Autoren nicht näher charakterisierten 2-Imino-dihydro-deaza-isoalloxazin (9), das sich jedoch nicht in das entsprechende Deazaflavin überführen ließ.



Wie in der Flavinreihe von Yoneda et al.⁴⁷⁾ beschrieben, sind N-Alkylxylidin-urazile (z.B. 11) geeignete Vorstufen zum Flavinringschluß. In Anlehnung an dieses Verfahren, das auch auf Deazaflavine anwendbar ist⁴⁸⁾, erhielten Hemmerich und Janda⁵⁰⁾ in, im Vergleich mit der Synthese von Weinstock

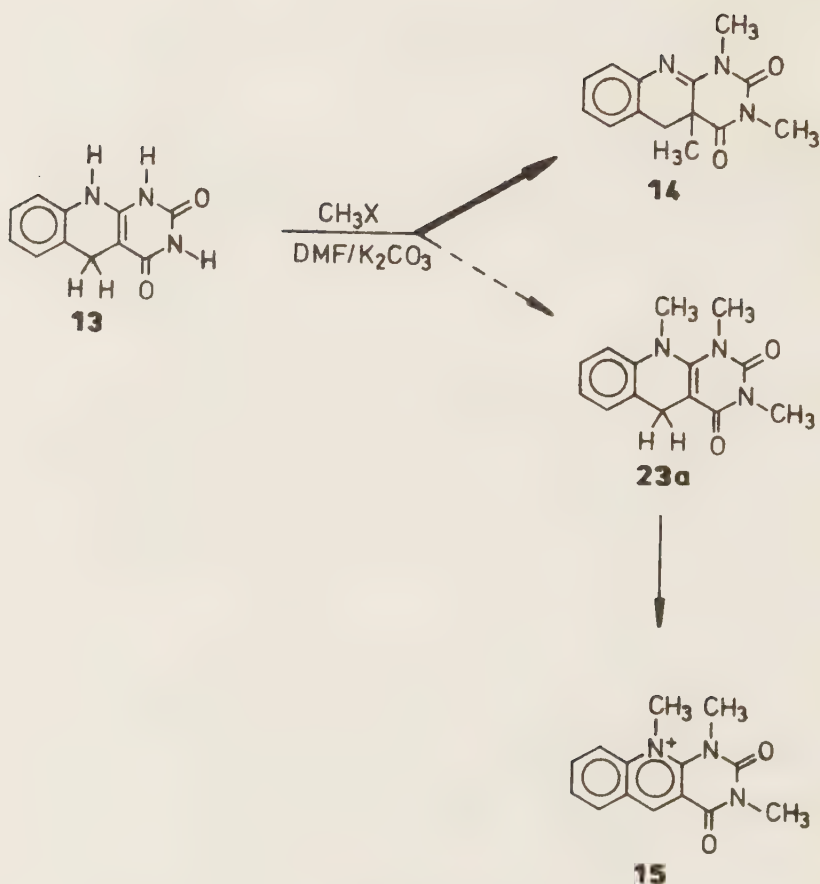
et al.²⁷⁾, guten Ausbeuten 5-Deaza-riboflavin (12).



2.2. Synthese des 1,3,10-Trimethyl-deazaflavinium-perchlorats

Von den skizzierten Synthesewegen für Deazaflavine, waren die ausschließlich in die 5-Deaza-alloxazin-reihe führenden nicht zur Darstellung 1,3,10-trialkylierter 5-Deazaflavine vom Typ 15 anwendbar.

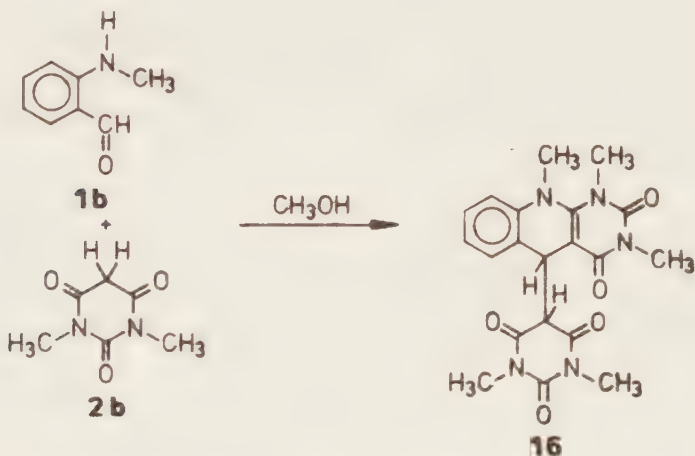
Auch das naheliegende Verfahren, die auf einfachem Wege darzustellenden Dihydro-deaza-systeme 13 nachträglich zu alkylieren, konnte nicht zur Anwendung gelangen. Aus Untersuchungen von Fenner und Michaelis²⁸⁾ war bekannt, daß bei diesen Reaktionen die N(10)-Position nicht in nennenswerter Weise als nucleophiles Zentrum fungiert; vielmehr erhält man durch Substitution an C(4a) fast ausschließlich 4a,5-Dihydro-deaza-alloxazine (zB. 14).



Es ist ersichtlich, daß N(10)-Substituenten in der Deazaflavinreihe lediglich im Zuge einer Direktsynthese einzuführen sind, was den Einsatz von N-alkylierten Anthranilaldehyden erforderlich macht. *)

Der nach einem Verfahren von G.B. Barlin⁵¹⁾ hergestellte N-Methyl-anthranilaldehyd (1b) wurde unter verschiedenen Reaktionsbedingungen mit 1,3-Dimethyl-barbitursäure (2b) umgesetzt.

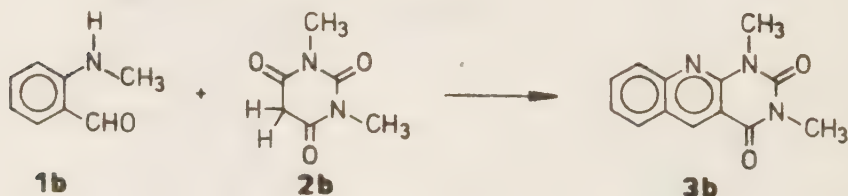
In methanolischer Lösung entstand unter Rotfärbung eine Substanz, deren Strukturermittlung das Vorliegen eines Reaktionsproduktes unter Umsetzung von 2 Äquivalenten 2b mit 1b ergab.



*) Auch die zu Beginn der präparativen Arbeiten noch nicht publizierte Synthese nach dem Yoneda- Ringschlußprinzip^{48,49)} läßt sich nicht so variieren, daß nachträglich Substituenten in die N(1)-Position eingeführt werden können. Wie belegt ist²⁸⁾, ergeben Dihydro-isoalloxazin-derivate bei der nachträglichen Alkylierung 2 α ,3,10- sowie 2 α ,4 α ,10- alkylierte Verbindungen, nicht jedoch ausschließlich N-substituierte Derivate, wie das gewünschte 23a.

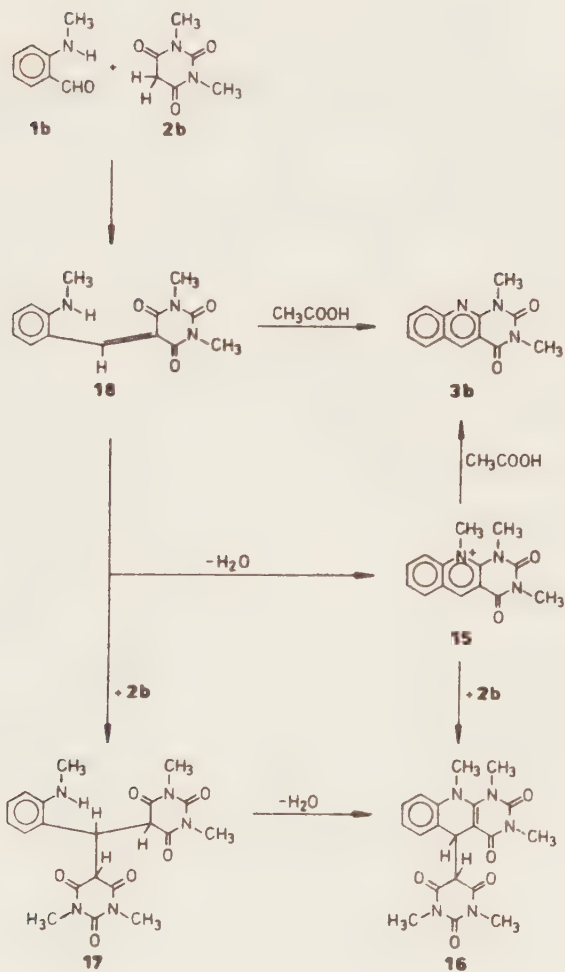
Bei Verwendung von überschüssigem 2b läßt sich die Reaktion quantitativ zu 16 führen. Das gewünschte 1,3,10-Trimethyl-deazaflaviniumsystem ist unter diesen Bedingungen nicht faßbar.

Bei der Kondensation von 1b mit 2b in Eisessig färbte sich die Lösung schon nach kurzer Zeit gelb und nach fünfstündigem rückfließendem Erhitzen konnte eine Substanz isoliert werden, deren DG- Analyse auf Einheitlichkeit schließen ließ. Durch vergleichende spektroskopische Untersuchungen erwies sie sich als identisch mit dem beschriebenen²⁸⁾ 1,3-Dimethyl-5-deaza-alloxazin (3b). Dieser Weg wurde daher nicht weiter verfolgt.



Wie die beiden Reaktionen vermuten ließen, mußte unabhängig vom Milieu als Primärschritt die Kondensation von 1b mit 2b zur Benzyliden-barbitursäure 18 erfolgt sein.

In Methanol ist in Anwesenheit von überschüssigem 2b eine Addition zum ringoffenen 17 zu diskutieren, das nun im Gegensatz zu 18 enolisierbar und damit zu 16 cyclisierbar ist. Alternativ dazu kann die Entstehung von 16 so gedeutet werden, daß, in Anwesenheit von überschüssigem 2b, spontane



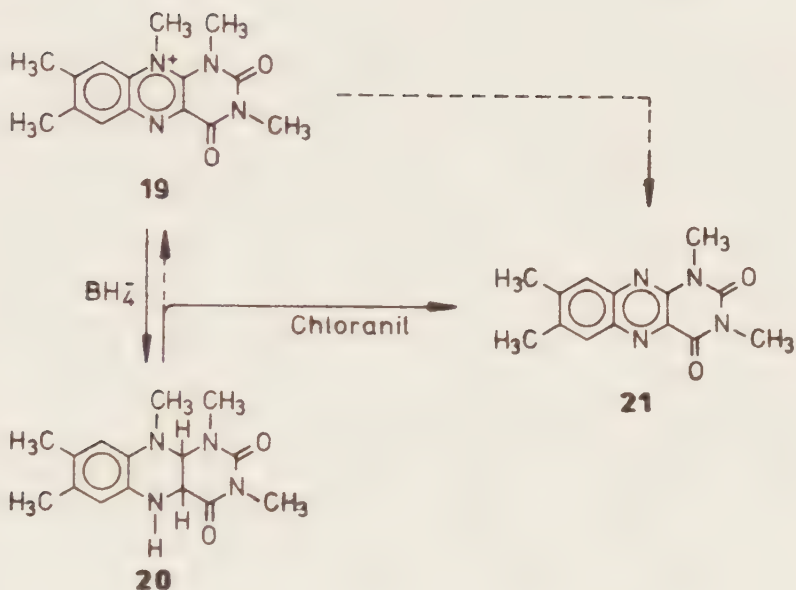
Schema 3

Addition an das durch Cyclisierung der Benzylidenverbindung 18 entstandene Deazaflaviniumsystem 15 erfolgt.

Auch für die in essigsaurer Lösung gefundene Bildung des 1,3-Dimethyl-deaza-alloxazins 3b muß 15 als Intermediat postuliert werden:

Während in dem obengenannten Falle die kinetisch kontrollierte 5-Addition als Folgereaktion eintritt, stabilisiert sich 15 unter diesen Bedingungen durch N(10)-Dealkylierung. Diese Deutung des Reaktionsverlaufs steht im Einklang mit der beschriebenen Instabilität vergleichbarer N-Alkylpyridinium⁵²⁾-, chinolinium⁵³⁾- sowie -acridinium⁵⁴⁾-Salze. Auch hier werden die beiden Wege der Quartärsalz-Stabilisierung beschritten: Nucleophile Addition oder N-Dealkylierung.

Ein diesem Verhalten analoger Fall ist auch in der Flavreihe realisiert. Bei der Chloranil-Dehydrierung des mit Natriumborhydrid erhaltenen Tetrahydroflavins 20 entsteht nicht das Startmaterial 19, sondern hier wird ebenfalls unter N(10)-Dealkylierung das dem Deaza-alloxazin 3b entsprechende 1,3-Dimethyl-lumichrom 21 erhalten⁵⁵⁾.



Aus dieser Interpretation des Reaktionsablaufs ergaben sich für eine erfolgversprechende Synthese bzw. Isolierung der Deazaflaviniumsalze (zB. 15) folgende Überlegungen:

Die Reaktion von 1b mit 2b mußte durch Solvens und Konzentration von 2b so gesteuert werden, daß die zur 5,5'-Bis-barbiturylverbindung 16 führende Folgereaktion verhindert wird. Hierbei bot sich an, 1b nur in großem Überschuß mit 2b zur Reaktion zu bringen, oder die Reaktionsbedingungen so zu modifizieren, daß das Gleichgewicht zwischen 15 und

16 sich zugunsten von 15 einstellt.

Ebenso eindeutig sollte eine gezielte Zerlegung des Adduktes 16 in 2b und 15 verlaufen.

Untersuchungen über den letzten Reaktionstyp ergaben, daß in alkalischem Milieu die Bildung von 15 nicht eintritt, sondern Folgereaktionen noch näher zu beschreibender Art eintreten (s.S.61). In saurem Milieu - zB. bei Zugabe von Mineralsäuren zu einer methanolischen Lösung von 16 - entsteht in rascher Reaktion quantitativ 15.

Die Einheitlichkeit der Spaltungsreaktion läßt sich auch spektral belegen:

Wie in Abb. 1 dargestellt, erfolgt bei Aufnahme eines Elektronenspektrums von 16 unmittelbar nach Zugabe von Trifluoressigsäure eine charakteristische langwellige Verschiebung, sie beweist das Vorliegen eines Deazaflaviniumchromophors.

Auch durch ^1H -NMR-Spektroskopie läßt sich die quantitative Bildung von 15 aus 16 verfolgen (Abb. 2).

Während das NMR-Spektrum von 16 gemessen in CDCl_3 (Abb. 3) für die beiden Methinprotonen C(5) und C(5') je ein Duplett bei $\delta = 3,9$ und $5,1$ ppm zeigt, wobei das C(5')-Proton aufgrund seiner elektronenziehenden Nachbargruppen mit D_2O austauschbar ist, fehlen bei 16 in CDCl_3 nach Zugabe von 10 Tropfen TFE diese beiden Methinprotonen. Die Spaltung der C(5)-C(5')-Bindung ist somit evident. Wie aus Abb. 2 weiter hervorgeht, liegt nach Zugabe von TFE ein Gemisch von 15

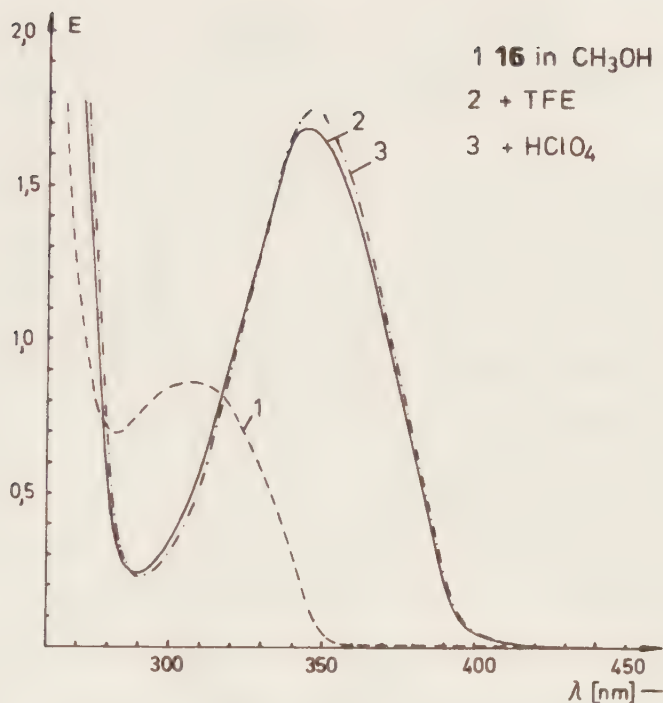
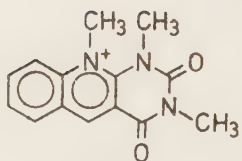
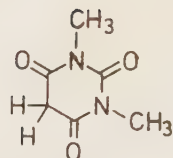


Abb. 1: Elektronenspektren von **16**

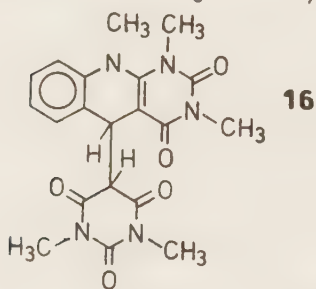
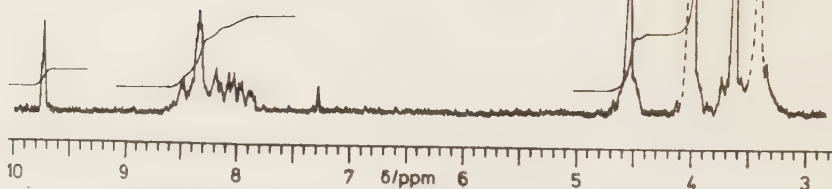
und **2b** im Verhältnis 1:1 vor, wobei **15** durch die Lage des C(5)-H bei $\delta = 9,75$ ppm und die drei Drei-Protonen-Singulett der N(1,3,10)-Methylgruppen bei $\delta = 4,55; 4,0; 3,65$ ppm und **2b** durch das Singulett der C(5)-H₂-Gruppe bei $\delta = 4,0$ ppm sowie das Sechs-Protonen-Singulett der beiden N(1,3)-Methylgruppen bei $\delta = 3,45$ ppm charakterisiert ist. Aus den hier dargelegten Untersuchungen ergibt sich, daß die Additionsverbindung **16** in einem eindeutigen Reaktionsverlauf in das Kation **15** und die Barbitursäure **2b** gespalten werden kann.



15



2b



16

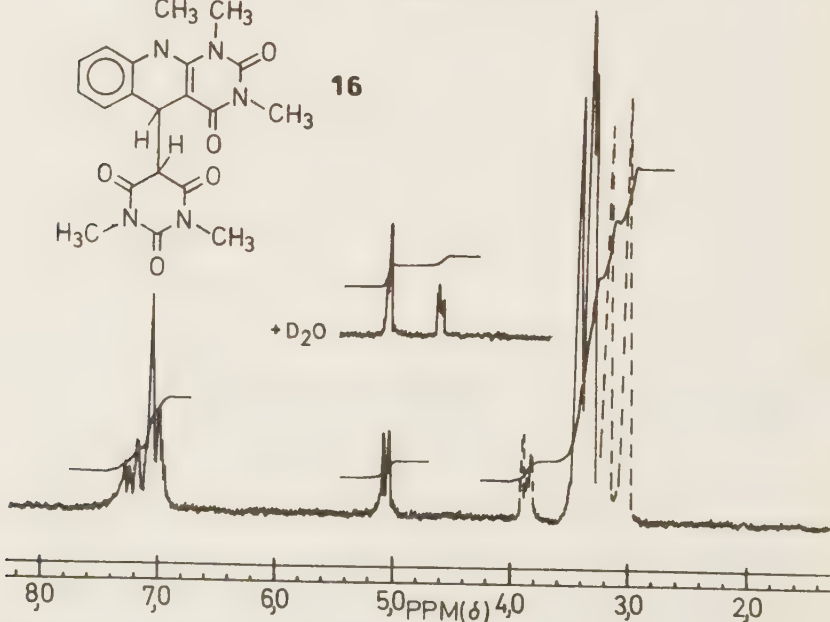


Abb. 2: 16 in CDCl_3 n. Zug. von 10 Tropf. TFE, 1----- 2b

Abb. 3: 16 in CDCl_3 , ----- 5'-Barbituryl-,

Als präparativ günstig erwies sich, diese Reaktion in methanolischer Lösung durch vorsichtiges Zutropfen von 70 % HClO_4 durchzuführen, da das Perchlorat von 15 in besonders reiner Form auskristallisiert.

Die oben diskutierte Möglichkeit durch geeignete Steuerung der Reaktionsbedingungen - Verwendung überschüssigen N-Methyl-anthranilaldehyds - den Syntheseverlauf ausschließlich zu 15 zu führen, wurde aus verschiedenen Gründen nicht weiter untersucht. Eine möglichst quantitative Umsetzung des nur durch aufwendige Synthesen zugänglichen Aldehyds 1b ist nur dadurch sichergestellt, daß man aus dem in Schema 3 dargestellten Gleichgewicht zu einer vollständigen Umsetzung im Sinne der Adduktbildung zu 16 kommt. 16 läßt sich quantitativ isolieren und in einer übersichtlichen Reaktion in das Kation 15 überführen.

Insgesamt stellt sich der Reaktionsverlauf nach diesen Untersuchungen in Abhängigkeit vom Solvens wie folgt dar:

In jedem Falle muß das Kation 15 als Zwischenprodukt auftreten. Die beschriebenen Reaktionsbedingungen führen zu kinetisch stabilen Folgeprodukten, oder es findet als irreversible Reaktion N(10)-Dealkylierung statt. Die unter geeigneten Bedingungen mögliche Rückführung des Bisbarbituryladduktes 16 in das Deazaflaviniumkation 15 gewinnt für dessen Synthese Bedeutung.

Struktur, spektrale Eigenschaften und Reaktivität von 15 insbesondere seine Additionsfähigkeit in den vorgegebenen

Positionen 5 und 10a wurde ausführlich untersucht und mit entsprechenden Umsetzungen " normaler " Flaviniumsalze in Bezug gesetzt.

2.3. Charakterisierung des 1,3,10-Trimethyl-deazaflavinium-perchlorats

Durch ^1H -NMR, IR, UV/VIS und massenspektroskopische Daten wurde die Struktur von 15 gesichert. Bei der Diskussion der spektralen Eigenschaften des Deazaflaviniumsystems fanden zwei Aspekte Berücksichtigung:

Nach Maßgabe von Polarität und Acidobasizität des Milieus sollten die jeweils dialkylierten Vertreter der Deaza-alloxazin- (1,3-Dimethyl-deaza-alloxazin 3b) sowie der Deza-isoalloxazin- reihe (3,10-Dimethyl-deaza-isoalloxazin 22) in Beziehung gesetzt werden zum vollständig blockierten Deazaflaviniumsystem.

Weiterhin war zu untersuchen, inwieweit Deazasytème dieser Art noch isochrom zu Flaviniumsalzen sind, woraus sich erste Anhaltspunkte auf mögliche Unterschiede im Verhalten gegenüber additionsfähigen Nucleophilen ergeben sollten.

2.3.1. ^1H -NMR-Untersuchungen

Abb. 4 zeigt das NMR-Spektrum von 15 gemessen in CD_3CN . Für das C(5)-H ergibt sich ein Signal bei $\delta = 9,7$ ppm, für die vier Aromatenprotonen (6,7,8,9) ein Multiplett bei $\delta = 7,8-8,65$ ppm und für die drei N-Methylgruppen in den

Positionen 1,3 und 10 Drei-Protonen-Singulettts bei $\delta = 3,5$; 3,9 und 4,5 ppm.

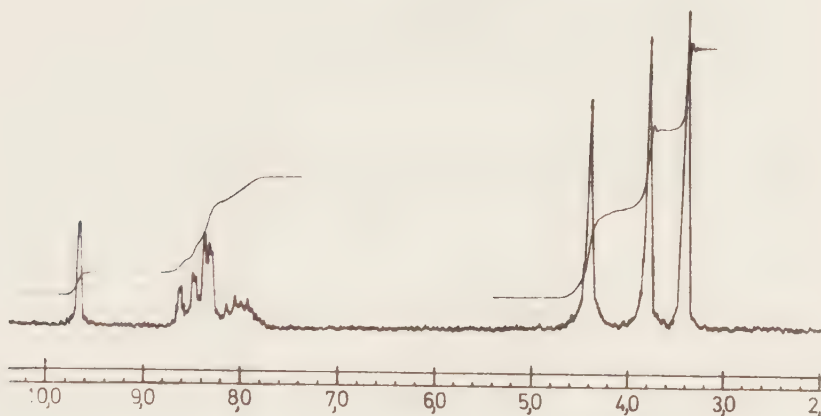


Abb. 4: ^1H -NMR von 15 in CD_3CN

Um die Lage der N-Methyl-Protonen eindeutig zuordnen zu können, wurde 15 mit 1,3-Dimethyl-deaza-alloxazin 3b und 3,10-Dimethyl-deaza-isoalloxazin 22 verglichen, hierzu wurden, durch Aufnahme der NMR-Spektren in deuterierter Tri-fluoressigsäure, die protonierten Spezies von 3b und 22 herangezogen. Um Lösungsmittelleffekte auszuschließen wurde auch 15 in TFE gemessen (Abb. 5).

Die in Tabelle 1 aufgeführten Daten und die hier vorgenommene Zuordnung der N- CH_3 -Protonen von 15, 3b und 22 geben eine eindeutige Korrelation zwischen der chemischen Verschiebung und dem Ort der Substitution wieder.

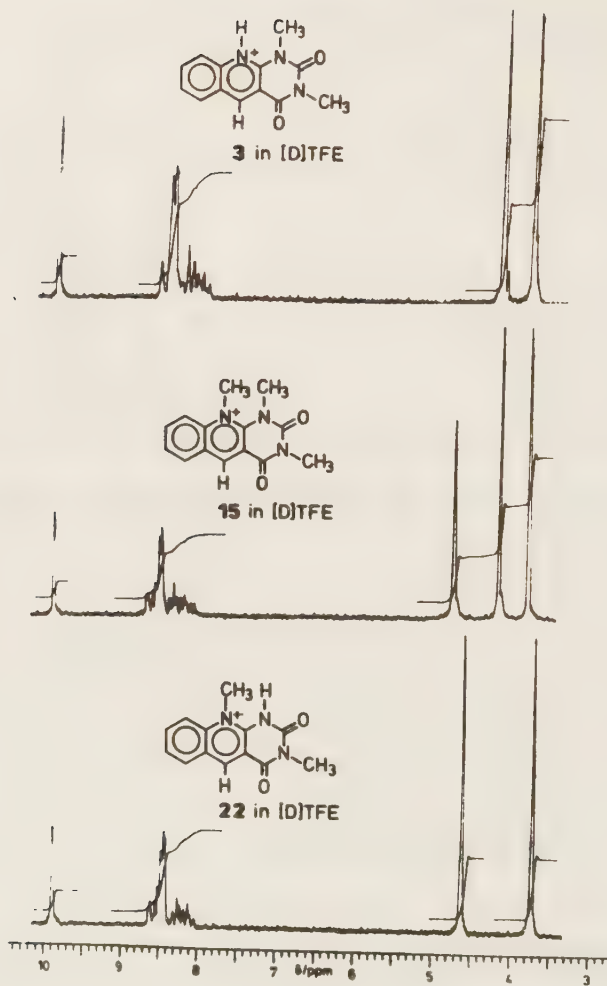
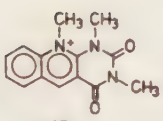
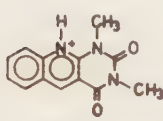
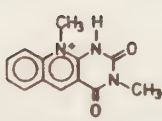


Abb. 5: ^1H -NMR von **3b**, **15** und **22** [D] TFE

	 15	 3b	 22
N(1)-CH ₃	4,0	4,0	---
N(3)-CH ₃	3,65	3,6	3,7
N(10)-CH ₃	4,55	---	4,6
C(5)-H	9,75	9,7	9,85
Ar(6,7,8,9)-H	7,95-8,6	7,75-8,4	7,9-8,65

Tab. 1: ¹H-NMR-Daten von 15, 3b, 22 in [D] TFE (δ_{TMS} in ppm)

Nach Tab. 1 ergibt die N(3)-CH₃-Gruppe in allen untersuchten Fällen ein deutlich abgesetztes Signal im höheren Feld (3,6-3,7 ppm). Die N(10)-CH₃-Struktur wird durch ein Signal im tieferen Feld (4,5-4,6 ppm) repräsentiert, während das N(1)-CH₃ hier eine Mittelstellung (4,0 ppm) einnimmt.

2.3.2. IR- spektroskopische Untersuchungen

Das IR-Spektrum von 15 zeigt bei 1085 cm⁻¹ eine typische Bande für das Perchloratanion. Bei 1605 und 1520 cm⁻¹ liegen die für die meisten sechsgliedrigen aromatischen Ring-systeme typischen Schwingungen, während die Aryl-H-Bande bei 1577 cm⁻¹ als Folge der weiteren Konjugation des Nachbar-ringes auftritt.

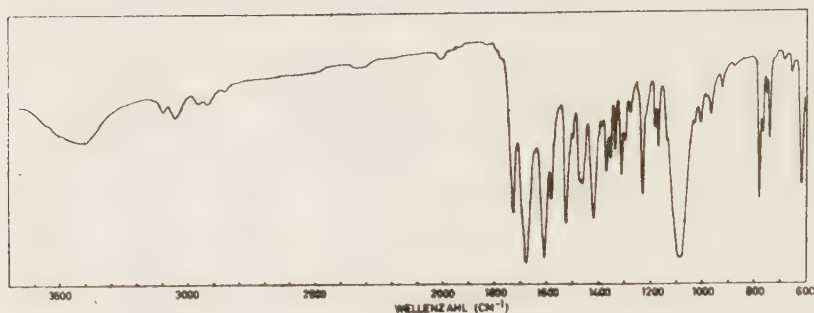


Abb. 6: IR-Spektrum (KBr) von 15

Die Carbonylschwingungen bei 1723 und 1673 cm^{-1} (Abb. 6) sind der Diketopyrimidinstruktur zuzuordnen. Ihre Zuordnung erfolgte durch Vergleich mit den IR-Spektren von O,O-Mono- und Dialkylderivaten in der Flav⁵⁶)- und Deazaflavinreihe²⁸).

Die Gegenüberstellung der Carbonylabsorptionen des Deazaflavinumkations 15 mit dem Flavinium-perchlorat 19, sowie des Deaza-lumichroms 3b mit dem Lumichrom 21 ist in Abb. 7 realisiert.

Es zeigt sich eine auffallende Übereinstimmung in der Lage der Carbonylschwingungen von 15 und 19. Bei den Lumichromen 3b und 21 findet sich jeweils eine Verschiebung zu höherer Frequenz. Als Ursache hierfür ist die bei 15 und 19 elektronendefizientere Struktur des kationoiden Nachbarkerns anzusehen.

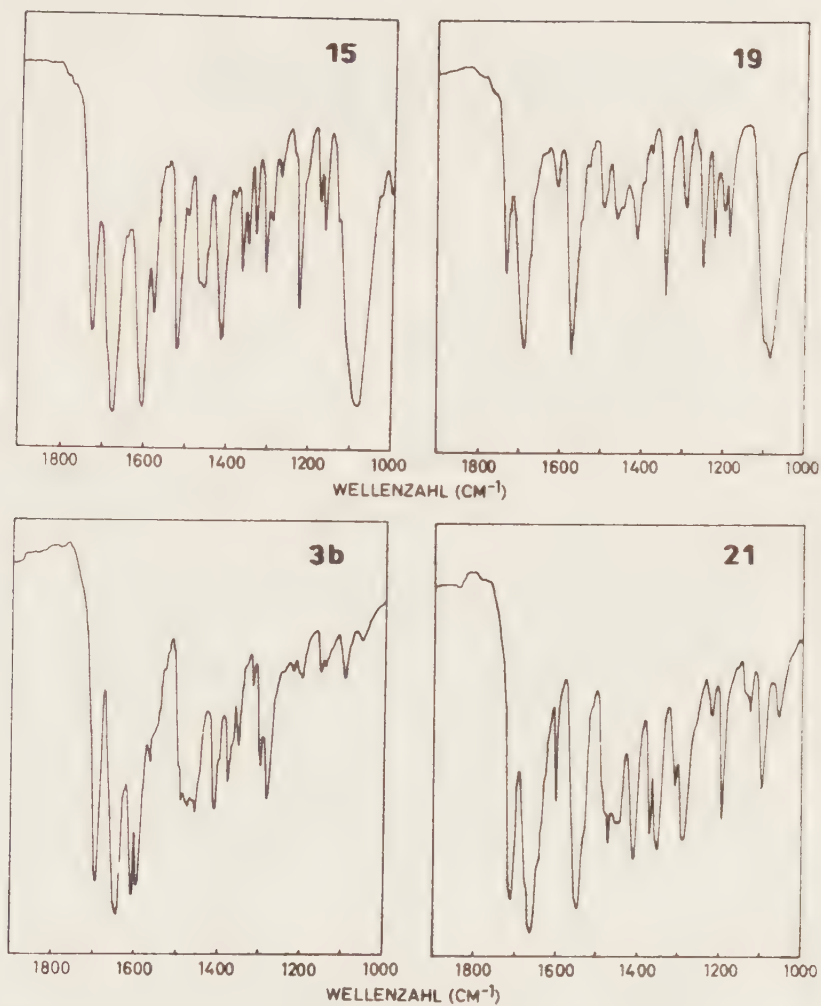
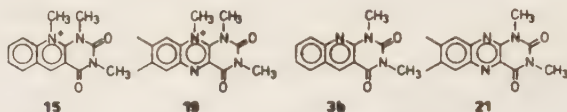


Abb. 7: IR-Spektren (KBr) von 15, 19, 3b, 21 im Bereich
von 1000-1900 cm^{-1}

In Tab. 2 sind die Carbonylabsorptionen zusammengefaßt:



2-CO	1673	1695	1645	1660
4-CO	1723	1730	1695	1710

Tab. 2: 2-CO und 4-CO Absorptionsbanden von 15, 19, 3b, 21
(IR-Spektren (KBr), cm^{-1})

2.3.3. Massenspektroskopische Untersuchungen

Um den Verlauf der massenspektroskopischen Fragmentierung von 15 untersuchen zu können, und um für Quartärsalze dieser Struktur typische Abbaumechanismen zu ermitteln, wurde 15 mit dem Flavinium-perchlorat 19 verglichen.

In beiden Fällen treten Molekülionen auf, die um 15 M/E geringer sind als das Formelgewicht des jeweiligen Kations: 15 (256: M/E- 15: 241), 19: (285: M/E- 15: 270). Dies steht in Übereinstimmung mit den Untersuchungen von Hesse et al.⁵⁷⁾, die bei quartären N-methylierten Alkaloidsalzen einen um 15 M/E ärmeren Molpeak fanden, dessen Entstehung sie durch einen N-Demethylierungsmechanismus erklären konnten. Die naheliegende Analogie dieser Untersuchungen zu 15 und 19 warf die Frage auf, ob hier die Demethylierung in N(1) oder N(10)-Position erfolgt. Hierzu war es notwendig 15 und 19

in ihrer Fragmentierung mit den in der Literatur^{28,58)} zitierten Daten von 1,3-Dimethyl-lumichromen bzw. Deaza-lumichromen sowie 3,10-Dimethyl-lumiflavinen bzw. Deaza-lumiflavinen zu vergleichen, da nach Hesse et al.⁵⁷⁾ der weitere Massenabbau völlig analog zu dem der entsprechenden " Norbasen " verläuft.

Der Vergleich mit den Literaturdaten ergab, daß die in Abb. 2 aufgezeigten Schlüsselbruchstücke von 15 und 19 eindeutig in die Lumichrom bzw. Deaza-lumichromreihe führen: Nach der Abspaltung einer Methylgruppe ist die weitere Fragmentierung identisch mit der von authentischem 1,3-Dimethyl-deaza-lumichrom (3b) bzw. 1,3-Dimethyl-lumichrom (21). Es hat also in beiden Fällen N(10)-Demethylierung stattgefunden.

In den nachfolgenden Schemata 4,5 wird die Fragmentierung von 15 und 19 in den einzelnen Schritten wiedergegeben. Interessanterweise ergibt der durch thermische N(10)-Demethylierung in die Deaza-lumichromreihe führende Massenabbau von 15 eine Parallele zu dem Verhalten von 15 in Eisessig, wo ebenfalls diese Demethylierung beobachtet werden konnte.

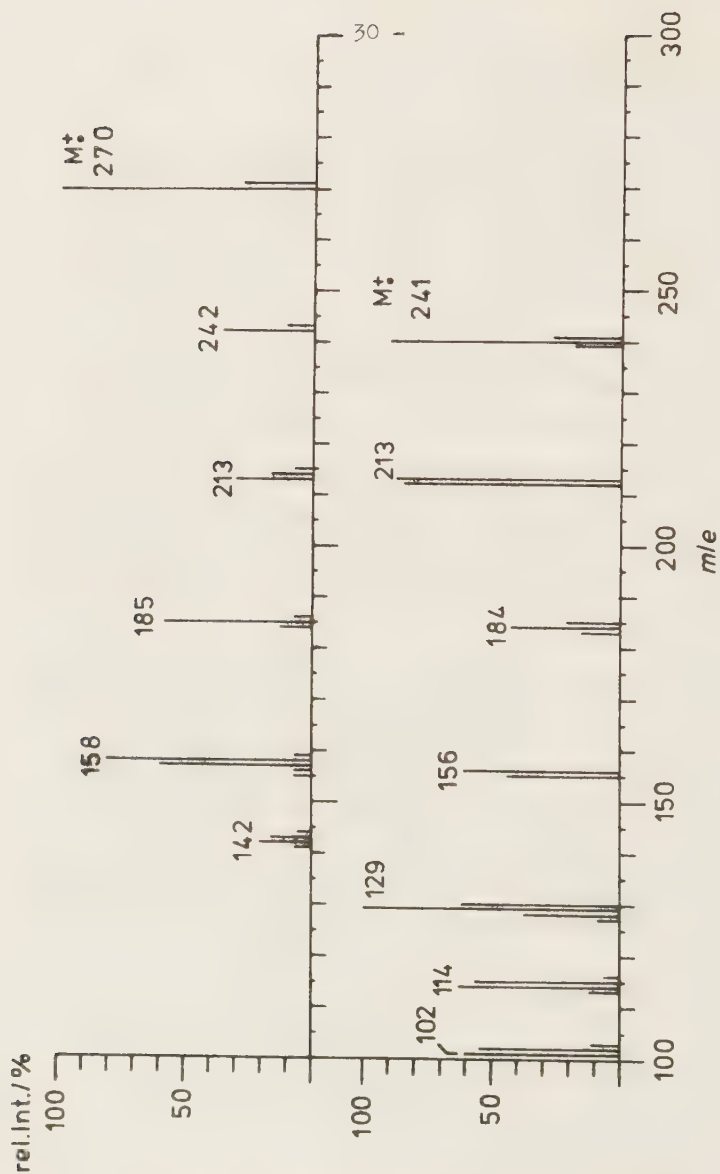
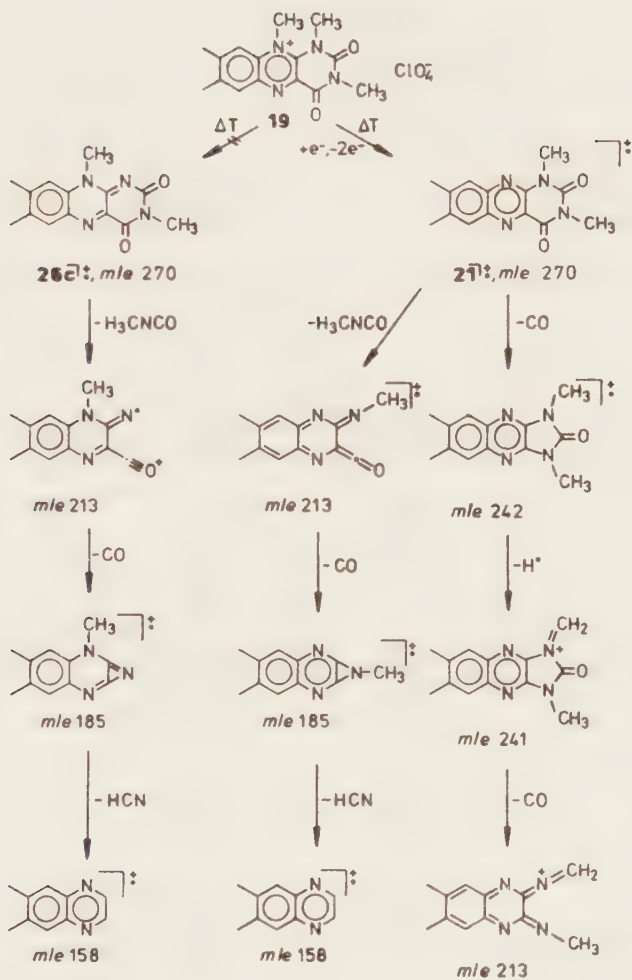
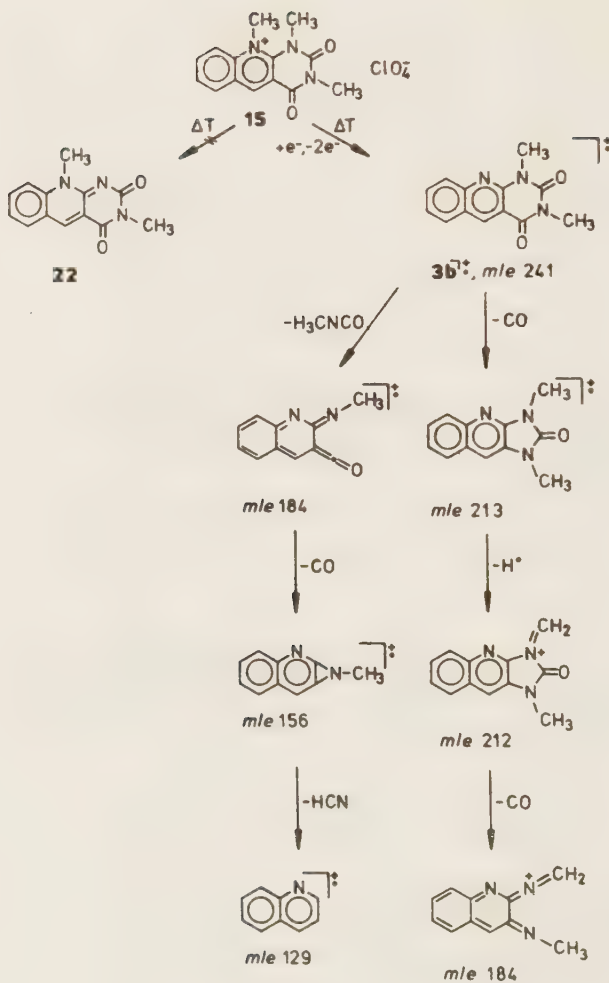


Abb. 8: Massenspektren von 19 (oben) und 15 (unten)



Schema 4: Fragmentierung von 19



Schema 5: Fragmentierung von 15

2.3.4. Elektronenspektroskopische Untersuchungen

In Abb. 9 werden die Elektronenspektren der Verbindung 15 mit 3b und 22 verglichen.

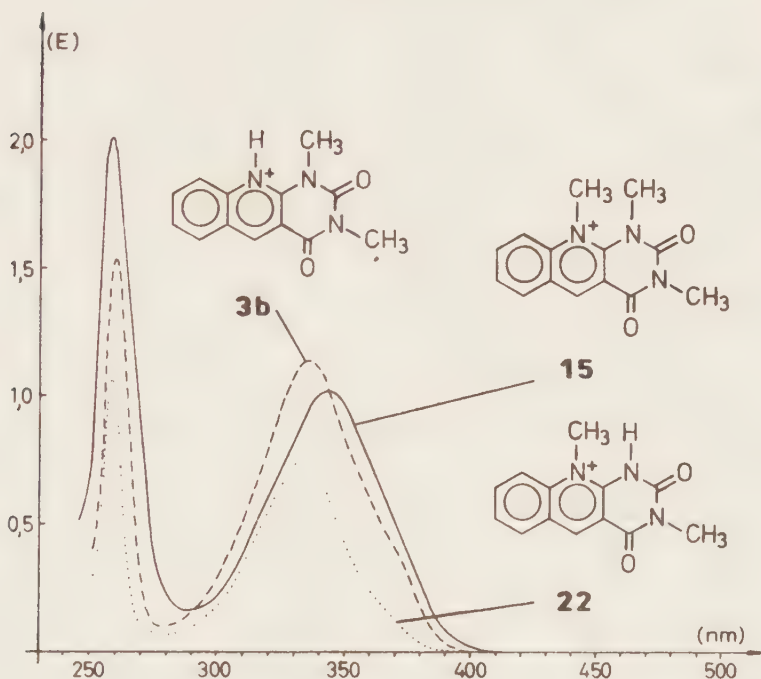


Abb. 9: UV/VIS von 15, 3b, und 22 in CF_3COOH

Während die kurzwelligen Absorptionen mit Maxima um 258 nm nahezu identisch sind, ergeben sich für die langwelligen Absorptionen Werte von 343 (15), 335 (3b) und 333 nm (22) bei unterschiedlicher Extinktion. Die um 10 nm bathochrom

verschobene Absorption von 15 ist auf die Verlängerung des Chromophors um eine Methylgruppe zurückzuführen.

Bei der Aufnahme von Elektronenspektren von 15 in Methanol und Acetonitril verbreitert sich das Maximum der langwelligen

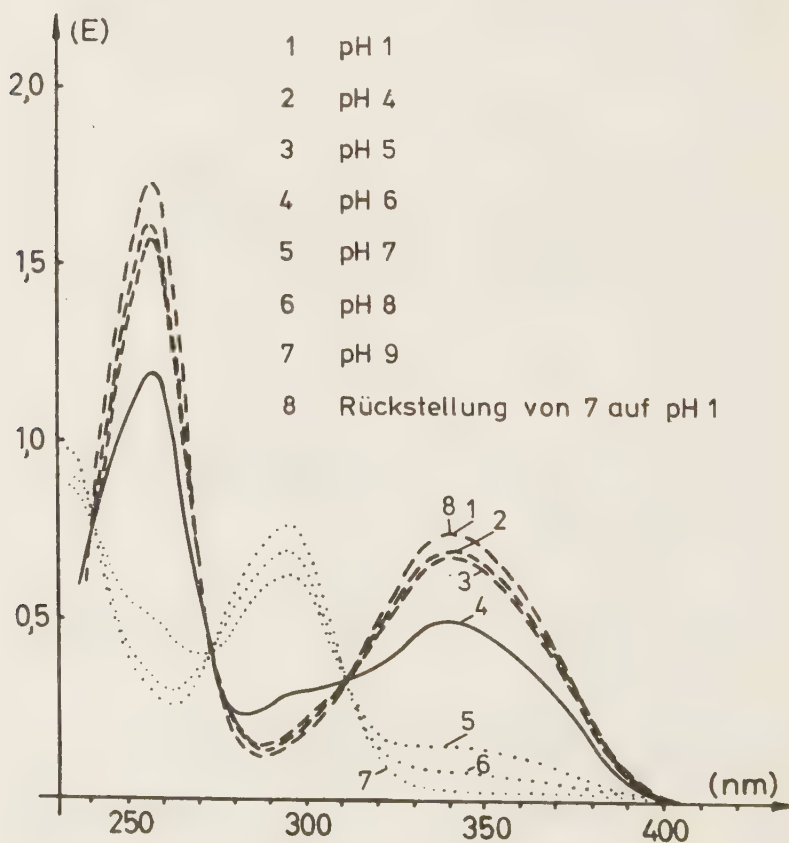


Abb. 10: UV/VIS von 15 in Puffern von pH= 1 bis pH= 9

Absorption stark, was auf eine Reaktion von 15 mit dem Lösungsmittel schließen ließ. Um den für diese Umsetzungen kritischen pH-Bereich zu ermitteln, wurde 15 in verschiedenen Puffern von pH= 1 bis pH= 9 aufgenommen (Abb. 10).

Es zeigte sich hierbei, daß im Bereich von pH= 5-6 die Extinktion der langwelligen Absorption stark abnimmt und sich bei 300 nm eine Schulter bildet, deren Umwandlung in ein Maximum bei 294 nm bei pH= 9 vollständig ist, bei gleichzeitigem Verschwinden der langwelligen Absorption. Der isobestische Kurvenverlauf und die bei pH= 1 reversible Reaktion von 15 mit dem Puffer beweist, daß das Deazaflaviniumkation in wässrigem Milieu nur in einem pH-Bereich kleiner als 5 als solches vorliegt. Schon in neutraler wässriger Lösung liegt das Gleichgewicht dieser kovalenten Hydratation von 15 auf der Adduktseite.

Dieses spektrale Verhalten belegt zwei wesentliche Eigenschaften des Deazaflaviniumkations: Die sich in der ausgeprägten Additionsbereitschaft ausdrückende Elektrophilie des Systems, sowie die durch pH-Variation steuerbare Stabilität der Addukte.

Genauere Kriterien für den Mechanismus dieser Additionsreaktionen hinsichtlich der elektrophilen Positionen im Deazaflaviniumsystem, sowie die durch die Eigenschaften der Addenden kontrollierbare Stabilität der Additionsprodukte, wird nachfolgend ausführlich beschrieben.

3. Untersuchung der Redoxaktivität des 1,3,10-Trimethyl-

deazaflavinium-kations

Die Bedeutung des Deazaflavins für die Untersuchung flavin-abhängiger Oxidoreduktionen ist in den letzten Jahren durch grundlegende Studien belegt worden.

Die von Bruice³⁷⁾ mitgeteilte Reduktion von Deaza-lumiflavin durch NADH beweist die Fähigkeit von in 5-Position modifizierten Flavinen zur Aufnahme bzw. Übertragung von Hydrid-äquivalenten. Die Ergebnisse der Reaktionen von Deaza-FMN an bakterieller Luciferase³⁹⁾ und N-Methyl-glutamat-synthetase⁴²⁾ zeigen darüberhinaus, daß diese Coenzyme biologische Aktivität besitzen.

Die Möglichkeit 5-Deaza-Flavo-coenzyme in biologischen Systemen einzusetzen, beschränkt sich allerdings auf den Zwei-Elektronen-Transfer, da sie im Gegensatz zu natürlichen Flavinen in ihrer mittleren Redoxstufe - als Deazaflavinradikale - keine nennenswerte Stabilität besitzen, und somit ein Ein-Elektronen-Transfer auszuschließen sein dürfte.

Auch das kürzlich von Hersh et al.⁵⁹⁾ in einer Photoreaktion, mit ÄDTA als Elektronendonator, erhaltene Deaza-Flavoproteinradikal ist wegen der artifiziellen Art seiner Bildung mit dieser grundsätzlichen Feststellung im Einklang. Bei dem Deazaflavinium-kation 15 sollte die Fähigkeit zur Ein-Elektronen-Reduktion ebensowenig in Betracht kommen. Bei den analogen Trialkyl-flaviniumsalzen hatte sich gezeigt,

daß sie durch Alkylierung und somit Blockierung der Positionen N(1) und N(10) in " unnatürliche Flavine " übergehen und in ihrer Radikalstufe leicht Desalkylierungen in Position 10 erleiden.

Es stand daher bei der Untersuchung der Redoxaktivität von 15 die Frage im Vordergrund, inwieweit die verschiedenen in der Flavinreihe eingesetzten Reduktionsmittel in analoger Weise, als Konkurrenz zu reinen Reduktionsreaktionen, Addukte bzw. Umlagerungsprodukte ergeben. Neben der katalytischen Hydrierung sollte unter diesem Aspekt daher das Verhalten von 15 gegenüber Hydridendonatoren wie z.B. NaBH_4 , sowie gegenüber $\text{SO}_3^{2-}/\text{SO}_3\text{H}^-$ und $\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$ beobachtet werden.

Außerdem war die Reoxidationsfähigkeit der möglichen Dihydrostufen von 15 im Vergleich zu in N(1)- und N(10)-Position unsubstituierten Flavinen und Deazaflavinen zu untersuchen.

3.1. Synthese und Charakterisierung des 5,10-Dihydro-

1,3,10-trimethyl-deazaflavins

Bei der katalytischen Hydrierung von 15 in DMF wurde eine Substanz erhalten, deren DC-Analyse sie als einheitlich auswies.

Aus dem Massenspektrum dieser Verbindung, das einen um eine Masseneinheit im Vergleich zum Formelgewicht des Kations 15 größeren Molpeak erbrachte, konnte geschlossen werden, daß ein Wasserstoffäquivalent aufgenommen worden war.

Die Unterscheidung, ob sich hierbei durch einen Angriff am

Amidiniumkation das entsprechende cyclische Aminoal 23b oder durch eine Reaktion in Position C(5) das 5,10-Dihydro-system 23a ausgebildet hatte, erfolgte mit Hilfe der ^1H -NMR-Spektroskopie unter Heranziehung der Daten analoger Deazaflavine.

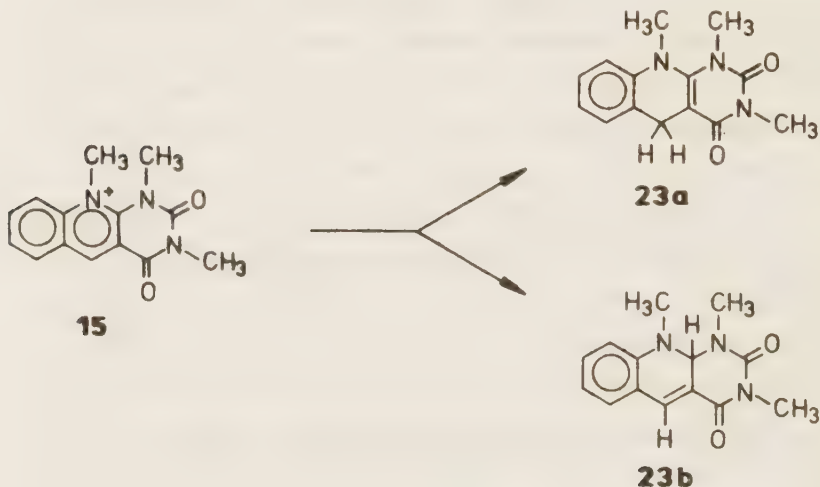


Abb. 11 zeigt das NMR-Spektrum des Hydrierungsproduktes in CDCl_3 . Neben dem Vier-Protonen-Multiplett des Aromaten bei $\delta = 6,95\text{--}7,3$ ppm, erscheint bei $\delta = 3,75$ ppm ein Singulett, das zwei Protonen entspricht. Die drei Methylgruppen in N(1,3,10) werden durch ein Drei-Protonen-Singulett bei $\delta = 3,5$ ppm und ein Sechs-Protonen-Singulett bei $\delta = 3,3$ ppm charakterisiert.

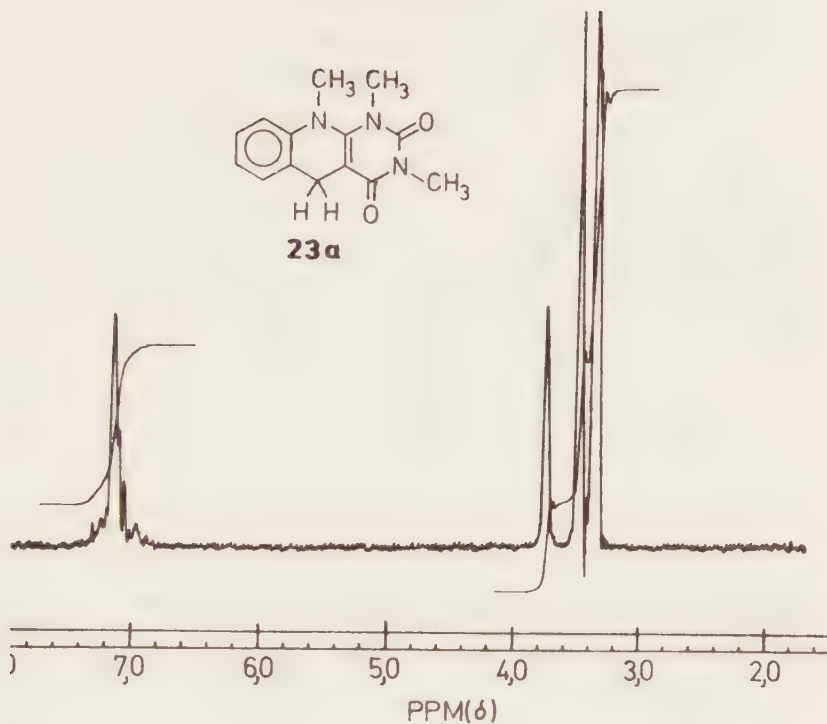
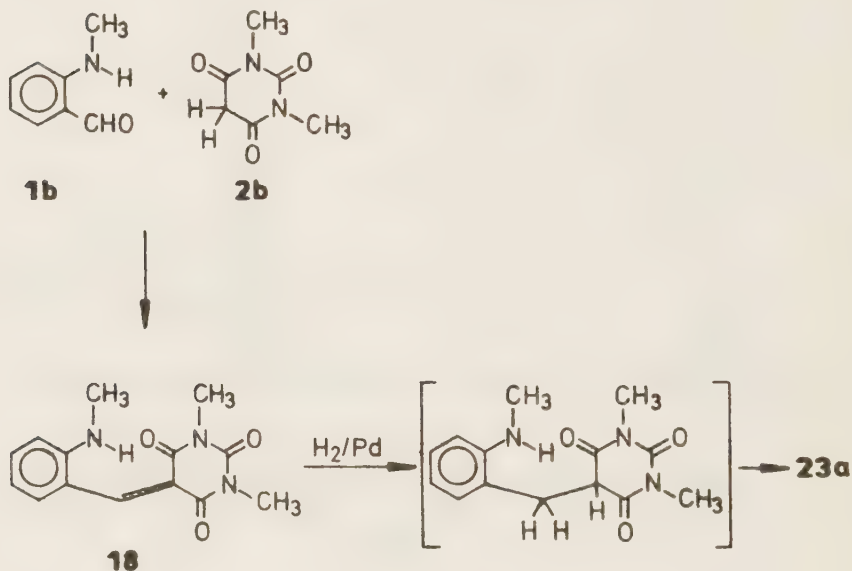


Abb. 11: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von 23a in CDCl_3

Aufgrund dieses Spektrums ist das Tautomere 23b auszuschließen, da die für die 10,10a-Dihydrostufe zu erwartenden Signale für die beiden Methinprotonen in C(5) und C(10a) fehlen. Diese Strukturzuordnung konnte weiterhin durch eine Direkt-synthese der 5,10-Dihydro-Verbindung 23a gesichert werden: Bei der Umsetzung von N-Methyl-anthranilaldehyd 1b mit der

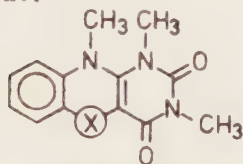
Barbitursäure 2b in 10 % methanolischer Kalilauge konnte die Benzylidenverbindung 18 isoliert werden, die sich nach katalytischer Hydrierung zu 23a cyclisieren läßt.



3.1.1. IR-spektroskopische Untersuchungen

Durch vergleichende IR-spektroskopische Untersuchungen von "blockierten" Dihydrosystemen der Flavin- und Thiaflavinreihe mit dem ersten Vertreter dieser Art in der Deazaflavinreihe (23a) sollte Aufschluß darüber erhalten werden, inwie-

weit sich die Unterschiede in der 5-Position auf die Lage der Carbonylschwingungen im Diketopyrimidin-System auswirkt.

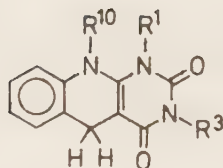


X		2-CO	4-CO
C-H ₂	<u>23a</u>	1630	1680
N-H	<u>25</u>	1645	1695
S	<u>27</u>	1620	1683
N-CH ₃	<u>28</u>	1634	1689

Tab. 3: 2-CO und 4-CO Absorptionsbanden von 23a, 25, 27, 28
(IR-Spektren (KBr), Wellenzahlen in cm⁻¹)

Wie aus Tab. 3 hervorgeht, hat eine isostere Substitution der 5-Position bei diesen blockierten Dihydrosystemen nur einen geringen Einfluß auf die Carbonylabsorptionen der Diketopyrimidinstruktur.

Ein Vergleich der Carbonylbanden von 23a, als vollständig blockiertem System der Deazareihe, mit den von Fenner und Michaelis²⁸⁾ beschriebenen 1,5-Dimethyl-dihydro- bzw. 5,10-Dimethyl-dihydro-deazaflavinen sollte für die beiden letzteren Verbindungen einen IR-spektroskopischen Beweis für das Vorliegen der 1,5-Dihydrostruktur erbringen.



	R ₁	R ₃	R ₁₀	2-CO	4-CO
<u>23a</u>	CH ₃	CH ₃	CH ₃	1630	1680
<u>24</u>	CH ₃	CH ₃	H	1630	1685
<u>29</u>	H	CH ₃	CH ₃	1620	1675

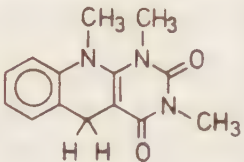
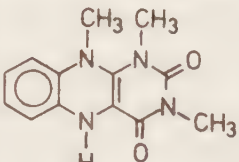
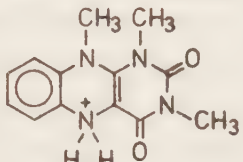
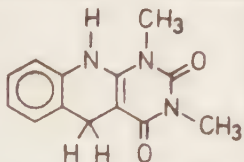
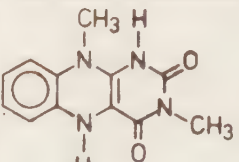
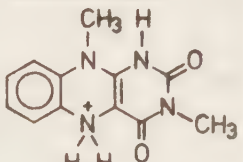
Tab. 4: 2-CO und 4-CO Absorptionsbanden von 23a, 24, 29
(IR-Spektren (KBr), Wellenzahlen in cm⁻¹)

Tab. 4 belegt das Vorliegen der 1,5-Dihydrostruktur in allen Dihydro-deazaflavinen, da die Carbonylschwingungen im Falle des vollständig N-substituierten Vertreters (23a) nur unwesentlich von denen der N(1)-H bzw. N(10)-H-Verbindungen verschieden sind.

3.1.2. Elektronenspektroskopische Charakterisierung von Dihydro-deazaflavinen

Ein Vergleich der elektronenspektroskopischen Daten der Dihydro-deazaflavine 23a und 24 mit den Dihydro-flavinen 25, 26 sollte eine Aussage darüber ermöglichen, inwieweit sich die isostere Substitution in der 5-Position auf das Chromophor auswirkt. Wie aus Tab. 5 zu entnehmen ist, fehlt bei den Dihydro-deazaflavinen die den Dihydro-flavinen eigene

langwellige Endabsorption ($\lambda_{\max} \approx 400 \text{ nm}$).

 23a	 25	 25a
$\lambda_{\max}$: 314 nm : 248 nm	$\lambda_{\max}$: 370 nm : 280 nm : 256 nm	$\lambda_{\max}$: 316 nm : 280 nm
 24	 26	 26a
$\lambda_{\max}$: 312 nm : 240 nm	$\lambda_{\max}$: 400 nm : 290 nm : 250 nm	$\lambda_{\max}$: 315 nm : 295 nm

Tab. 5: UV/VIS-Daten von 23a, 24, 25, 26, 25a, 26a

Wie früher gezeigt werden konnte⁶⁰⁾, beruht diese unspezifische Absorption bei den Dihydro-flavinen auf dem Franck-Condon-Verbot des ersten $\pi-\pi^*$ Überganges⁶¹⁾. Hierbei wird zugrunde gelegt, daß die Dihydro-flavine im Grundzustand gewinkelt, im ersten elektronischen Anregungszustand hingegen

planar sind. Im gewinkelten Zustand hat das N(5) bei den Dihydro-flavinen pyramidale Konfiguration, die nichtbindenden Elektronen haben partiellen s-Charakter, während sie im planaren Zustand reinen p-Charakter haben. Blockiert man die nichtbindenden Elektronen am N(5) durch Protonierung (25a, 26a) so entfällt die Endabsorption, d.h. der gewinkelte Zustand des Systems stabilisiert sich in Folge der Resonanz zwischen N(5) und dem Pyridin-Teilkern.

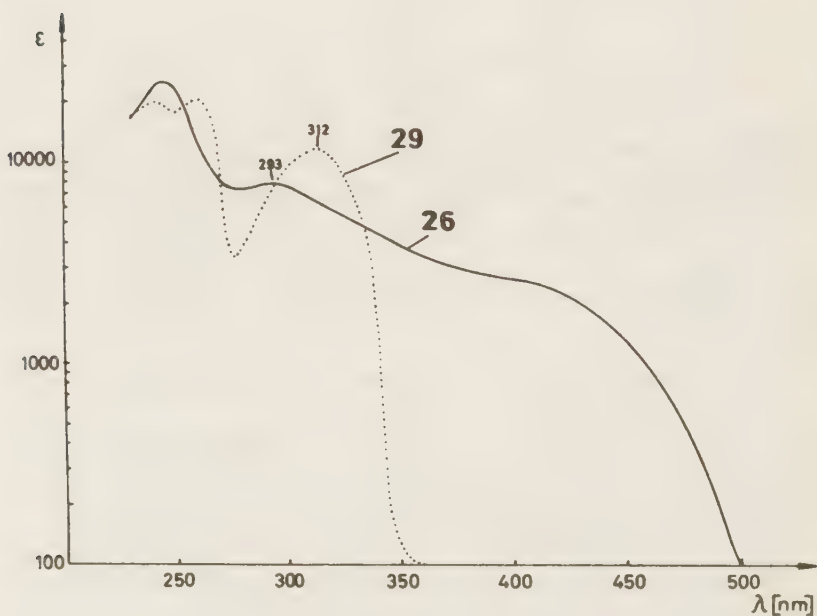


Abb. 12: UV/VIS (CH₃OH) von 29 und 26

Die langwellige Endabsorption ist von der mehr oder minder großen Planarität der Dihydro-flavin-Systeme abhängig, dies läßt sich auch an Hand der N(1)-blockierten Verbindung 25 (λ_{max} = 370 nm) im Vergleich zur N(1)-H Verbindung 26 (λ_{max} : 400 nm) zeigen. Die Peri-Substitution bei 25 begünstigt die Winkelung des Systems, da die beiden Methylgruppen in N(1) und N(10) sich nicht spannungsfrei in der Molekülebene orientieren können und führt zu einer um 30 nm geringeren Endabsorption im Verhältnis zur planarereren N(1)-unsubstituierten Verbindung 26.

Im Falle der Dihydro-deazaflavine 23a und 24 befindet sich in der 5-Position eine Gruppe mit vollständigem sp^3 -Charakter. Dies führt, wie bei den in 5-Stellung protonierten Verbindungen 25a und 26a, zu einer vollständigen Aufhebung der tricyclischen Resonanz. Die Strukturverwandtschaft der verschiedenen Dihydro-Systeme zeigt sich daher in einer weitgehenden Übereinstimmung der langwelligen Maxima (23a: 314 nm; 24: 318 nm; 25a: 316 nm; 26a: 315 nm).

Infolge der fehlenden Koplanarität bei den Dihydro-deazaflavinen hat eine Peri-Substitution hier keine Auswirkungen auf das Chromophor.

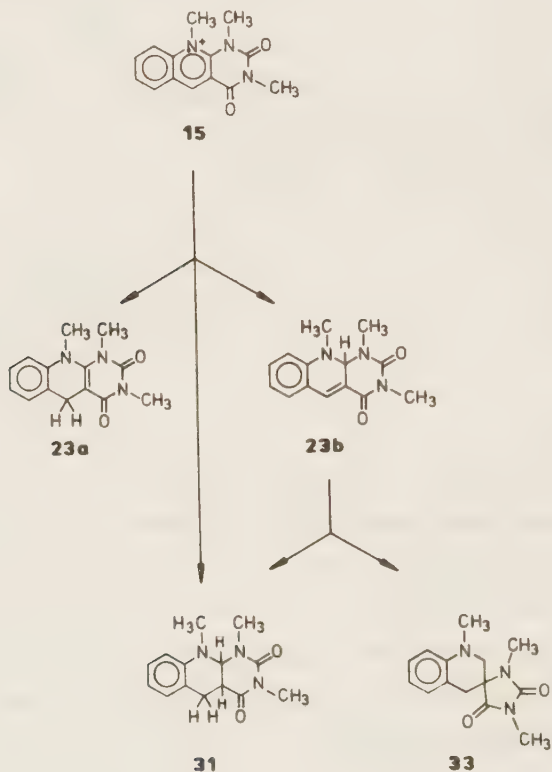
3.2. Reaktionen des 1,3,10-Trimethyl-deazaflavinium- kations mit komplexen Metallhydriden

Die Hydridakzeptoreigenschaft des C(5) in oxidierten Deazaflavinen ist in der Literatur unumstritten und auf chemischem und enzymatischem Wege nachhaltig belegt. Das Deazaflaviniumkation 15 sollte aufgrund seiner vergleichsweise stärker ausgeprägten Elektrophilie in dieser Position bei einer Reaktion mit komplexen Metallhydriden dort ebenfalls ein Hydridäquivalent addieren und die oben beschriebene Dihydrostufe 23a bilden. Um weitere Parameter für die Reaktionsfähigkeit von 15 zu erhalten, sollte darüberhinaus untersucht werden, ob als Konkurrenz zum C(5) andere elektrophile Zentren von Bedeutung sind.

Hemmerich und Dudley^{55,62)} konnten bei analogen Flaviniumverbindungen zeigen, daß diese Systeme in Abhängigkeit vom Milieu mit NaBH_4 variabel reagieren. Bei der Umsetzung des 1,3,10-Trimethyl-flavinium-kations 19 mit BH_4^- in absolutem Methanol entsteht das Tetrahydro-flavin 20, in wässrigem Milieu die Spiroverbindung 30. Die 1,5-Dihydro-verbindung entsteht in keinem Falle, da aus der Umsetzung von einem Hydridäquivalent mit Fl_{ox} das an der 4-Ketofunktion reduzierte System resultiert.

Das für die Flaviniumreihe typische Fehlen der Hydridaufnahme zum 1,5-Dihydro-System und die Bildung der Tetrahydrostufe kann so interpretiert werden, daß von der Skelett-

quantitativen Bildung der 1,5-Dihydropstufc 23a, unterstreicht den schon von anderen Autoren postulierten, grundlegenden Unterschied zwischen Flavinen und Deazaflavinen in Bezug auf die Fähigkeit zur Hydridaufnahme.



Die für das Flavinium-kation 19 geltende Stabilisierung eines Hydridadduktes durch Skelettumlagerung zum Spiran bzw. erschöpfende Reaktion mit H^- zum Tetrahydro-System spiegelt

das Fehlen der Möglichkeit zur Hydridaufnahme in Position 5 wieder, die nicht eintretenden Folgereaktionen beim Deazaflavin dagegen die Ausschließlichkeit der 5-Position für einen Hydridangriff.

Auch mit exessivem Hydridionen-Überschuß konnte 15 nicht zum Tetrahydro-System 31 umgesetzt werden.

Diese Untersuchungen belegen die eindeutige Präferenz der 5-Position im Deazaflavin als elektrophiles Zentrum, so wie das Fehlen einer nennenswerten Elektrophilie in Position 10a. Inwieweit diese Reaktionen auch auf nucleophile Reaktionspartner wie OH^- , Alkoholat, Amine und Carbanionen zu übertragen sind, war durch weitere Untersuchungen zu klären.

3.3. Reaktionen mit Sulfit und Dithionit

Addition von Sulfit und Dithionit in der 5-Position wurden von Massey und Müller⁶³⁾ sowohl beim Flavin als auch bei 1-Alkyl-flavinium-salzen untersucht. Die Sulfitaddition ermöglichte Massey et al.⁶⁴⁾ eine Differenzierung von Flavoprotein-dehydrogenasen- und oxidasen. Sie fanden, daß nur die Flavoproteine, die eine hohe Reaktivität gegenüber Sauerstoff haben, mit Sulfit reagieren, während die Dehydrogenasen gegenüber SO_3^{2-} inert sind. Der Flavinanteil der Oxidasen bildet mit Sulfit ein 5-Addukt, das O_2 direkt zu H_2O_2 reduzieren kann. Sulfitaddition konnte von Bruice und Brüstlein³⁷⁾ auch beim 3,10-Dimethyl-5-deaza-isoalloxazin

festgestellt werden. Nachdem Massey⁶⁵⁾ die Dunkelreaktion von Deaza-riboflavin charakterisiert hatte, bestätigten Shumann-Jorns und Hersh⁶⁶⁾ dieses Verhalten auch bei proteingebundenen Deazaflavinen.

Während aus den genannten Umsetzungen mit Sulfit reduziertes Addukt unter Oxidation von SO_3^{2-} resultiert, werden bei Umsetzungen mit Dithionit lediglich Reduktionen in 5-Position gefunden.

Bei der Reaktion von Pyridiniumsalzen mit Dithionit erfolgt die Reduktion über einen kovalenten Komplex zum Dihydro-pyridin, ein analoger Intermediärkomplex konnte bei Flavinen bisher nicht gefaßt werden. Wegen des Fehlens flavosemichinon-analoger Deazaflavin-Radikale kann der homolytische Zerfall kovalenter Intermediärkomplexe bei diesen Verbindungen ausgeschlossen werden.

Es war zu erwarten, daß das Deazaflavinium-kation 15 in analoger Weise reagiert, dabei aber infolge der 1,10-Blockierung reoxidationsstabilere Produkte liefert.

Bei der Reaktion von 15 mit Dithionit in wässriger Lösung fällt schon nach kurzer Zeit 23a aus, was durch den Vergleich der spektralen Daten mit authentischem Material sichergestellt werden konnte.

Die Sulfitreaktion zeigt eine Abhängigkeit vom pH des Milieus. (Abb. 13)

Im Bereich von pH= 8 ist die Reaktion quantitativ, was bei isosbestischem Kurvenverlauf durch das Absorptionsmaximum

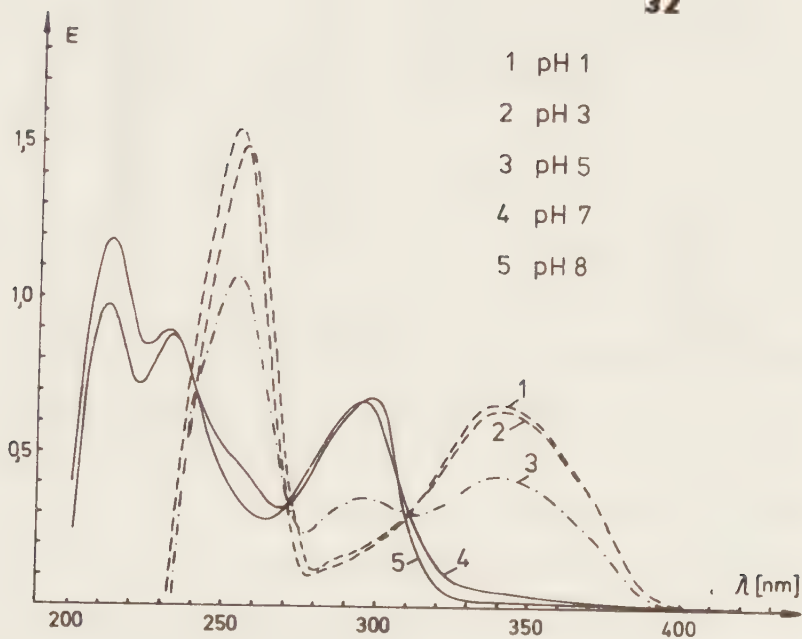
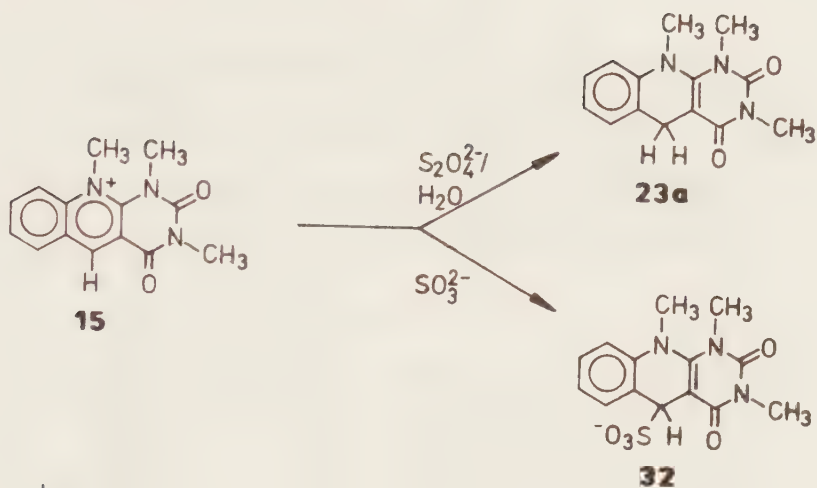


Abb. 13: UV/VIS der Sulfitaddition (**32**) in Abhängigk. v. pH

bei 304 nm ($\epsilon = 11800 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) gezeigt wird. Bruice und Brüstlein³⁷⁾ fanden beim Sulfitaddukt des 3,10-Dimethyl-deaza-1,5-dihydro-isoalloxazin ein Maximum bei 307 nm ($\epsilon = 12500 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). Die Bildung des 5-Adduktes 32 wurde weiterhin durch ^1H -NMR-Spektroskopie gesichert.

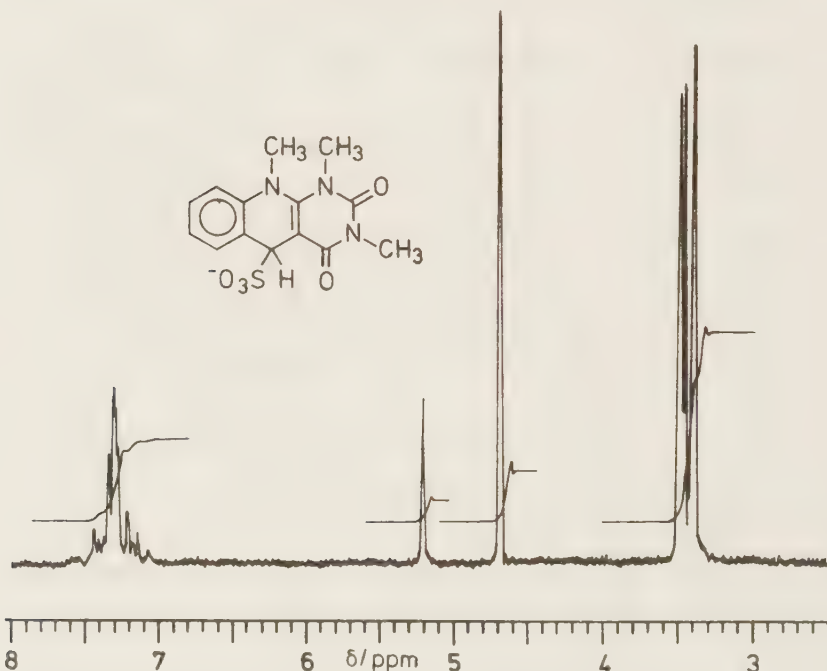


Abb. 14: ^1H -NMR-Spektrum von 32 in D_2O

Wie Abb. 14 zeigt, wird das Signal für das C(5)-H durch die Nachbarschaft der SO_3^- -Gruppierung deutlich ins höhere Feld verschoben. Im Vergleich zu 15 (C(5)-H = 9,75 ppm) erscheint

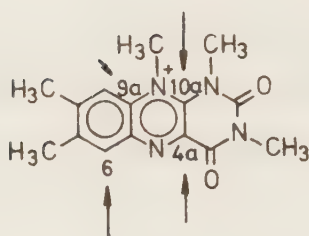
das Ein-Protonen-Singulett des C(5)-H beim Sulfitaddukt 32 bei $\delta=5,2$ ppm. Für das schon zitierte Sulfitaddukt³⁷⁾ wird ebenfalls ein Singulett bei $\delta=5,13$ ppm angegeben. 32 ist gegenüber Sauerstoff reoxidationsstabil. Durch Zugabe von 6n HCl läßt es sich rasch und vollständig in die Ausgangs-
verbindung zurückführen.

Die Umsetzungen von 15 mit Sulfit und Dithionit verlaufen - wie gezeigt werden konnte - analog zu den zitierten Untersuchungen an Flavinen und Deazaflavinen.

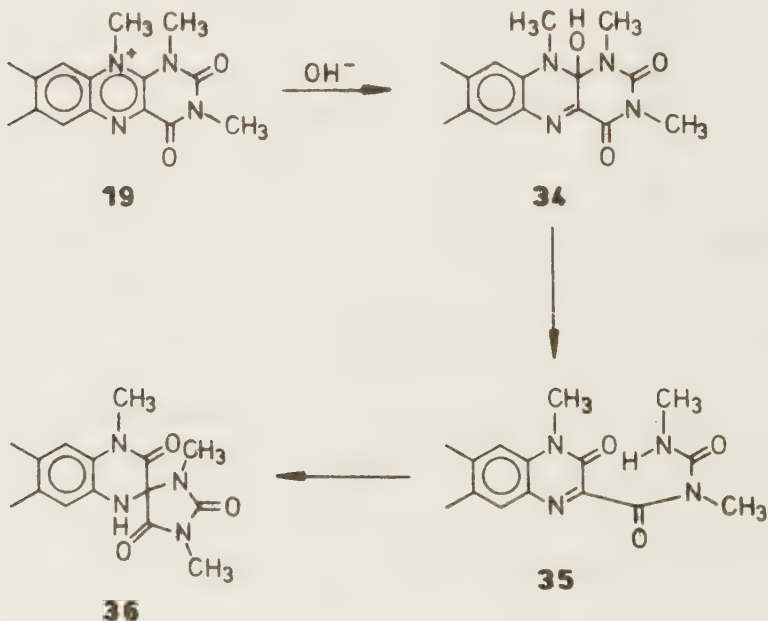
4. Reaktionen des 1,3,10-Trimethyl-deazaflavinium-kations mit nucleophilen Reagentien (OH^- , R-OH , NH-R_2)

Die Fähigkeit verschiedener Flavoproteine in 5-Position mit Sulfit unter Adduktbildung zu reagieren, fand vor allem in Hinblick auf die Möglichkeit Beachtung, daß natürliche Substrate, einschließlich molekularem Sauerstoff, ähnliche instabile Intermediärprodukte ausbilden könnten.

Da die Position des Eintritts von Sauerstoff in das Flavinsystem von verschiedenen Autoren uneinheitlich beschrieben wird, haben Modelluntersuchungen unter Verwendung von RO^- zur Aufklärung der Struktur von Zwischenprodukten der O_2 -Aktivierung Bedeutung erlangt. Die wichtigsten elektrophilen Positionen im Flaviniumsystem sind: 4a, 6, 9a, 10a.^{55,62,67)}

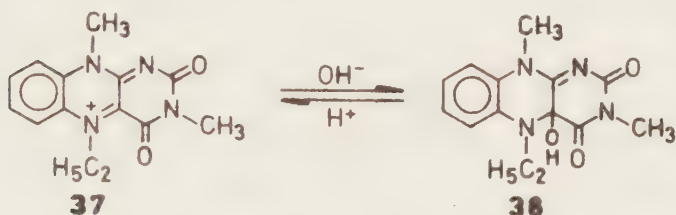


Aufgrund ihrer spektralen Daten konnten Addukte in den Positionen 4a, 6 und 9a postuliert werden, deren Instabilität keine Isolierung erlaubt. Durch die Isolierung von aus Additionen resultierenden Folgeprodukten ist bisher nur die 10a-Position eindeutig als reaktives Zentrum belegt worden.



Diese Umlagerung ist so zu erklären, daß hierbei OH^- unter Bildung von 34 an der Brückenposition 10a angreift, und durch Ringöffnung und nachfolgender Addition der endständigen Amidfunktion des Ureids 35 die Bildung der Spiroverbindung 36 einleitet.

Dieser Reaktionstyp ist grundsätzlich zu unterscheiden von Additionen am 5-Alkyl-flaviniumsystem, wo nicht die 10a- sondern die 4a-Position als bevorzugter Eintrittsort Nucleophiler (OH^-) festgelegt werden konnte⁶⁸⁾.



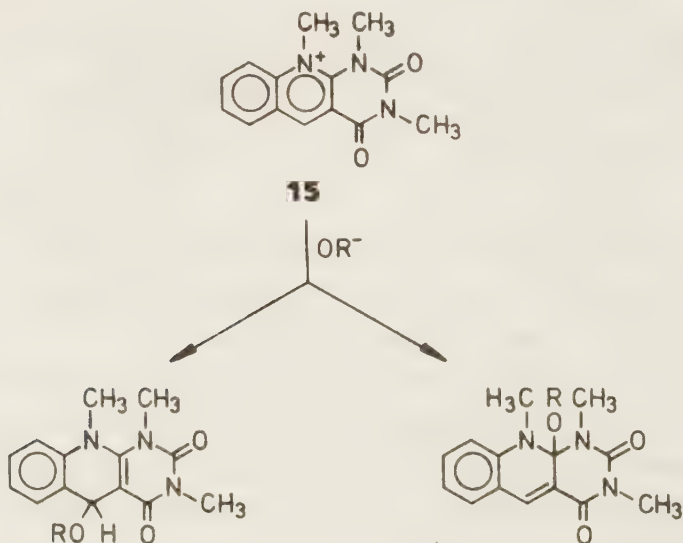
Die Bildung der Pseudobase 38 ist dadurch zu erklären, daß im System 37 die Resonanz des Iminiumions die Position C(4a) eindeutig zum elektrophilsten Angriffsort macht.

Sind die Positionen 10a und 4a somit als mögliche Angriffspunkte Nucleophiler anzusehen, so ergibt sich bisher kein Anhaltspunkt dafür, daß auch das N(5) dazu in der Lage ist. Songstad und Pearson⁶⁹⁾ begründen dies damit, daß die Wahrscheinlichkeit der Bildung von 5-Addukten beim Flavin dann am größten ist, wenn das " weiche " N(5) mit dem weichen Zentrum eines Nucleophilen (SO_3^{2-}) reagiert, dagegen ist ein 10a-Addukt dann wahrscheinlich, wenn das " harte " C(10a)

mit harten Nucleophilen (z.B. OH^-) zur Reaktion kommt.

Wendet man diesen Mechanismus auf das Deazaflavinium-kation 15 an, so sind mit OH^- bzw. Alkoholat sowohl 5- als auch 10a-Addukte zu erwarten, da beide Zentren als potentiell "hart" anzusehen sind.

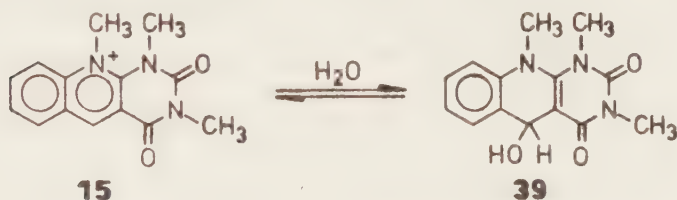
Das bei einem Initialangriff in 10a dem Carbinolamin 34 entsprechende Addukt, sollte sich auch hier spontan unter Ringöffnung stabilisieren. Im Falle einer Adduktbildung in C(5) sollte die Stabilität der sich bildenden Pseudobasen untersucht werden.



Über die Bildung bzw. die Stabilität von C(5)- bzw. C(10a)-Addukten mit den genannten Nucleophilen liegen in der Deazaflavinreihe bisher keine Studien vor.

4.1. Reaktion mit OH⁻

Wie bereits in Abb. 10 (S.34) gezeigt werden konnte, liegt das Deazaflavinium-kation 15 in wässrigem Milieu nur in einem Bereich von unter pH= 5 als Kation vor. Schon in neutraler wässriger Lösung befindet sich das Gleichgewicht der kovalenten Hydratation von 15 auf der Adduktseite. Durch Umsetzung von 15 in einem Puffer von pH= 9 wurde versucht, diese Reaktion in präparativem Maßstab nachzuvollziehen, um die Pseudobase 39 durch weitere spektrale Daten zu charakterisieren.



Da es nicht gelang, 39 in kristalliner Form zu fassen, wurde zur ¹H-NMR- spektroskopischen Charakterisierung der Pseudobase das Kation 15 in NaOD gelöst und sofort gemessen.

Wie Abb. 15 zeigt, ergibt sich für das C(5)-H ein Singulett $\delta = 3,8$ ppm, was deutlich eine sp³-CH-Absorption belegt und auf die Bildung eines C(5)-Adduktes schließen läßt.

Bei der Untersuchung der Stabilität von 39 stellte sich heraus, daß die Verbindung unter anaeroben Bedingungen (Argon-Atmosphäre) stabil ist.

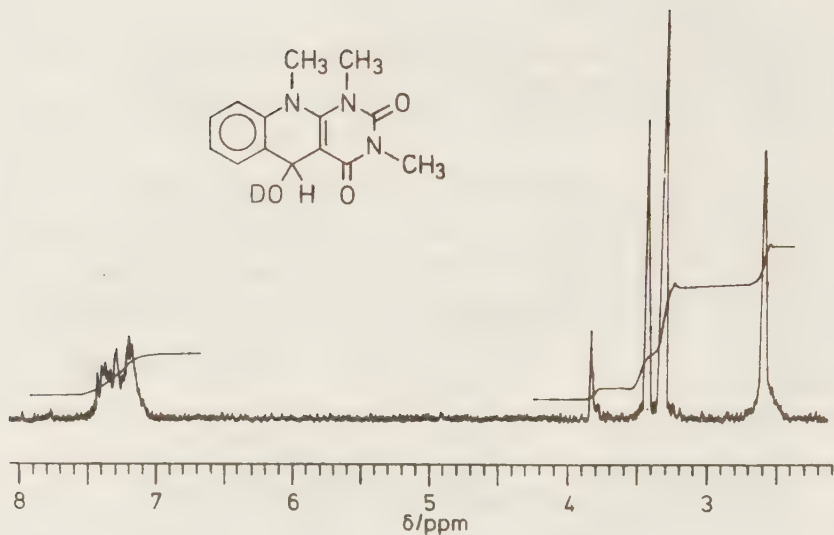
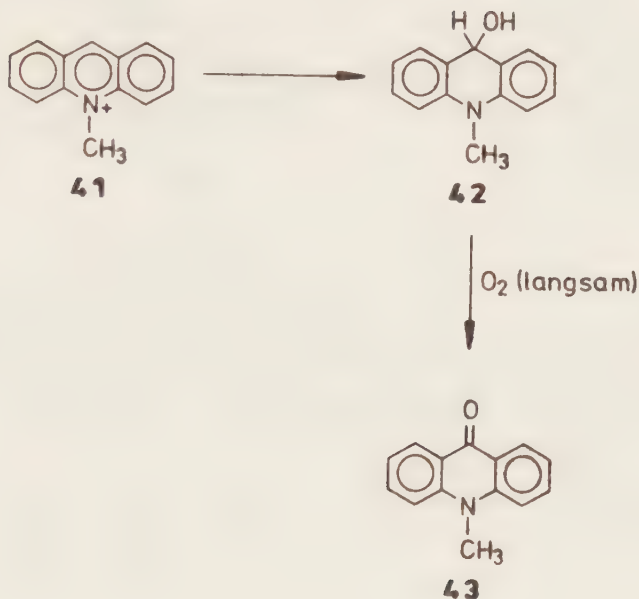


Abb. 15: ^1H -NMR-Spektrum von 39 (15 in NaOD)

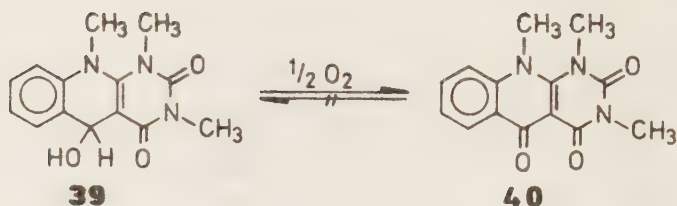
Überläßt man jedoch die Pseudobase 39 in wässriger Lösung der Einwirkung von Luftsauerstoff, verschwinden im Verlauf von ca. 24 Std. die für 39 typischen Absorptionsmaxima völlig. Diese Reaktion läßt sich auch im präparativem Maßstab führen, es wird eine einheitliche gegen weitere Zersetzung stabile Substanz isoliert.

Ein Literaturvergleich mit verwandten Pseudobasen der Pyrimido-chinolin-reihe^{70,71)} und Acridinium-reihe⁷²⁾ belegt deren Fähigkeit zur Autoxidation. So finden Spalding et al.⁷²⁾ bei der Reaktion von 10-Methyl-acridiniumsalzen mit NaOH

die Bildung des 9-Acridanons 43.

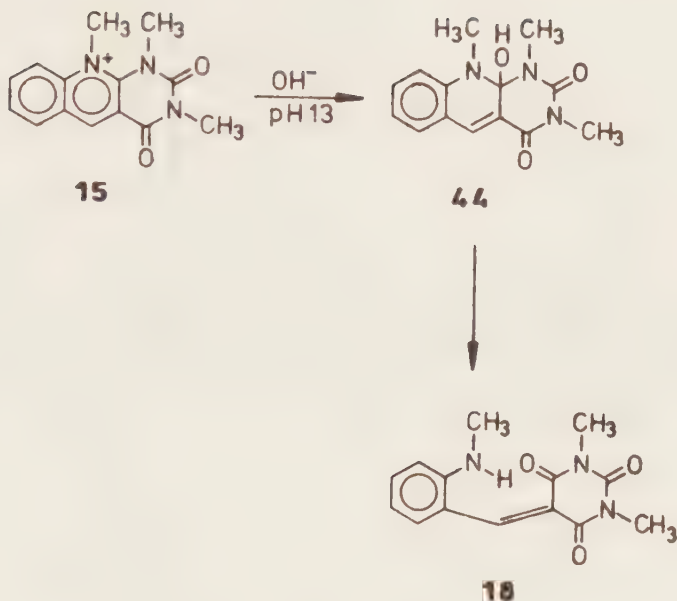


Clark und Parvici^{70,71)} postulieren im Falle der Pyrimido-chinolin-pseudobasen einen Hydridtransfer auf das unter den angegebenen Bedingungen noch im Gleichgewicht befindliche Chinolinium-salz bei gleichzeitiger Bildung des Ketons. Die Möglichkeit der Bildung des Ketons 40 aus der Deazaflavin-pseudobase 39 konnte durch dessen Direktsynthese (s.S.101) und Vergleich mit dem aus der Autoxidation von 39 enthaltenen Produkts bestätigt werden.



Allerdings trifft der oben zitierte Mechanismus^{70,71)} der Entstehung des Ketons für diesen Fall nicht zu, da bei pH= 9 die Konzentration des Deazaflavinium-kations vernachlässigbar ist, und somit im Reaktionsgemisch kein Hydridakzeptorsystem vorhanden ist.

Während sich die Pseudobase 39 unter anaeroben Bedingungen im Bereich von pH= 8-10 als stabil erweist, findet man bei weiterer pH-Erhöhung spektrale Veränderungen. Die Bildung des Ketons 40 unter diesen Bedingungen war auszuschließen, so daß die Möglichkeit einer von der Pseudobasenbildung verschiedene Reaktion im stark alkalischen Milieu zur Diskussion stand. Es wurde gefunden, daß bei pH= 11 eine Umsetzung zu 39 nicht mehr die Hauptreaktion ist, und bei pH= 13 deren Bildung völlig ausgeschlossen werden kann. Vielmehr entsteht unter diesen Bedingungen, wie ein Vergleich mit authentischem Material ergab (s.S.14), die Benzylidenbarbitursäure 18.



Die Bildung von 18 läßt sich durch Initialangriff von OH^- am Amidinkohlenstoff 10a erklären. Das entstehende Carbinolamin 44 reagiert spontan unter 10/10a-Ringöffnung zur Benzyliden-verbindung 18 weiter. Diese Ringöffnung kann durch ^1H -NMR-Spektroskopie belegt werden (Abb. 16). Durch die Bildung des sekundären Amins in 10-Position koppeln die drei Protonen der $\text{N}(10)\text{-CH}_3$ -Gruppe mit dem $\text{N}(10)\text{-H}$ ($\delta = 9,0 \text{ ppm}$) und ergeben ein Duplett bei $\delta = 2,95 \text{ ppm}$. Diese Kopplung läßt sich durch D_2O -Austausch des $\text{N}(10)\text{-H}$ aufheben, so daß sich für die Methylprotonen ein Singulett ergibt.

-62-

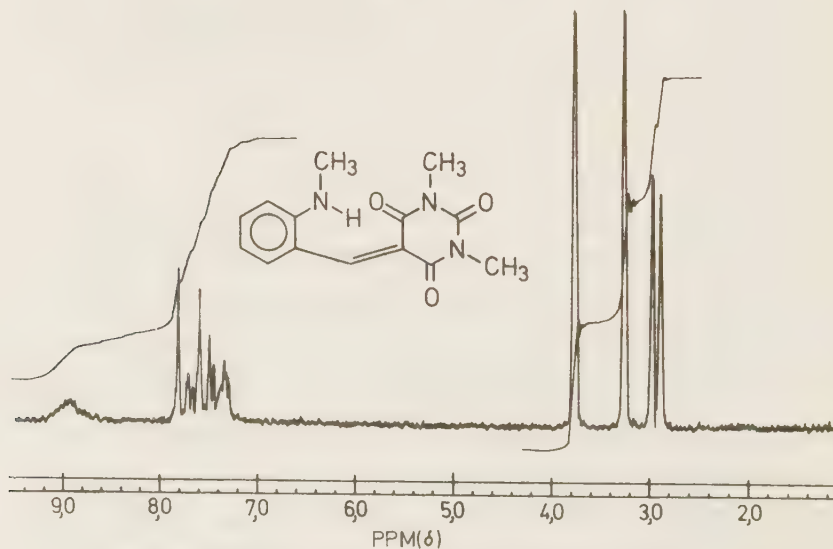
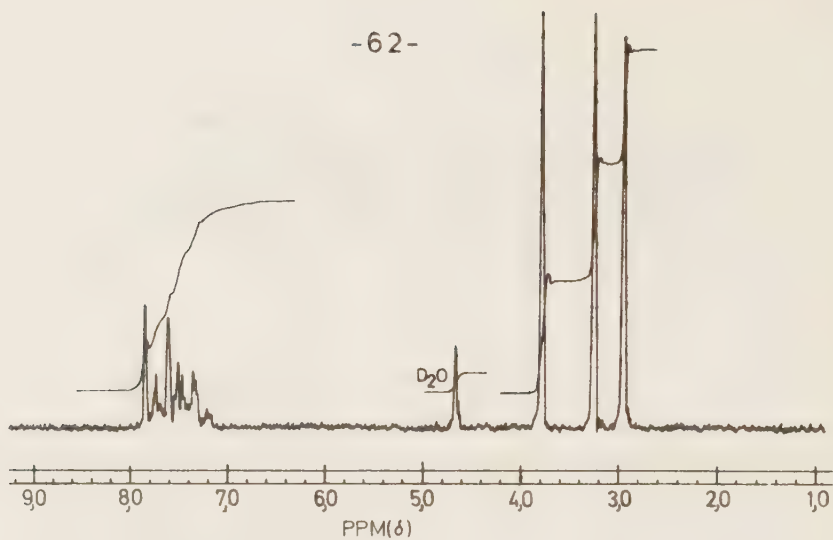
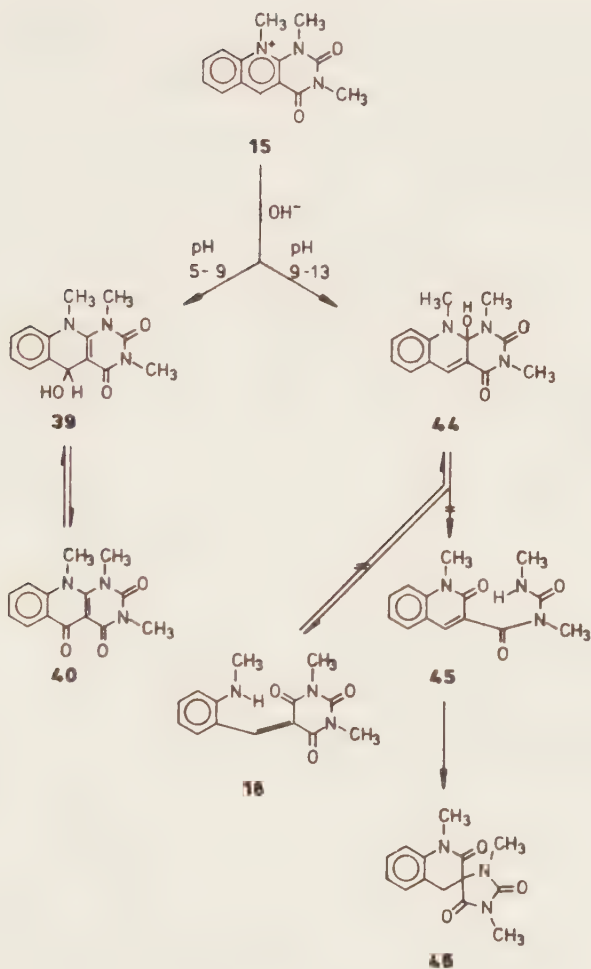


Abb. 16: ^1H -NMR-Spektrum von **18** in CDCl_3 (unten), nach D_2O -Austausch (oben)



Schema 6: Hydrolyseverhalten von 15

Die in Schema 6 dargestellte Gesamtübersicht des Hydrolyseverhaltens des Deazaflavinium-kations 15 in Abhängigkeit vom pH veranschaulicht die Bildung und Stabilisierung der 5 bzw. 10a-Addukte. Sie weist aus, daß sich die Reaktion von 15 mit OH^- grundlegend von der der Flavinium-salze unterscheidet. Während die von Hemmerich und Dudley⁵⁵⁾ beschriebene Spiranbildung die repräsentative Stabilisierungsmöglichkeit in der Flavinreihe darstellt, erfolgt eine vergleichbare Reaktion eines 10a-Adduktes beim Deazaflavin nicht, weil das Benzyliden-System 18 ausreichend stabil ist und im Gegensatz zum Flavin die 4a-Position keine nennenswerte Elektrophilie aufweist, was auch durch das völlige Fehlen von 4a-Addukten in der Deazflavinreihe belegt werden kann.

4.2. Reaktionen mit Alkoholat

Der interessante Aspekt einer Konkurrenz der Positionen 5 und 10a als bevorzugte elektrophile Zentren sollte auf seine Gültigkeit für andere nucleophile Reaktionspartner untersucht werden, und darüberhinaus das Fehlen flaviniumsalz-analoger Skelettumlagerungen zusätzlich abgesichert werden.

Ein Einsatz von Alkoholatanionen versprach weiter - unter Annahme eines mit der OH^- -Addition vergleichbaren Reaktionsverlaufs - die spektrale Charakterisierung eines 10a-Adduktes, da eine RO^- -Gruppierung die bei der Hydrolyse beschriebene Stabilisierungsmöglichkeit ausschließt.

Natriummethylat bzw. Natriumaethylat kommen mit 15 spontan zur Reaktion und ergeben Produkte, deren langwellige Absorptionsmaxima auf eine 5-Addition schließen lassen, wie ein spektraler Vergleich mit der Pseudobase 39 ergab.

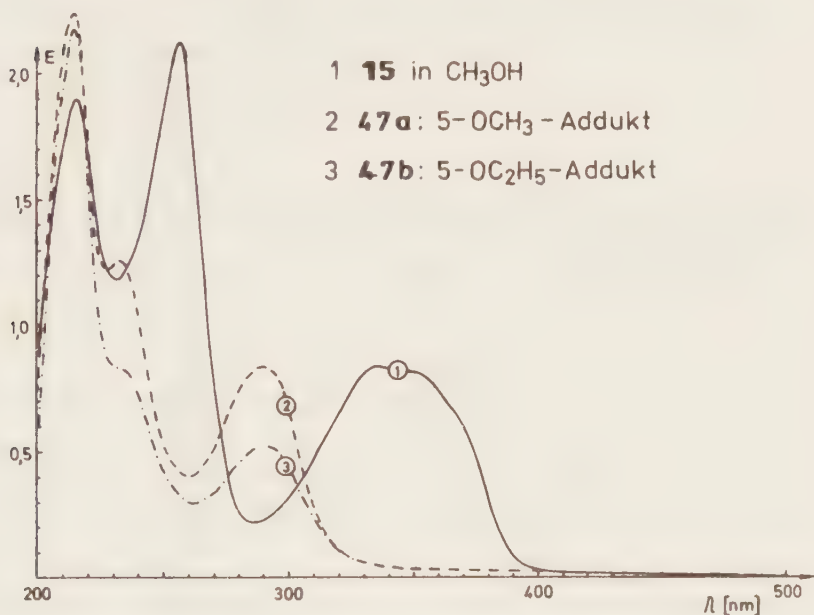
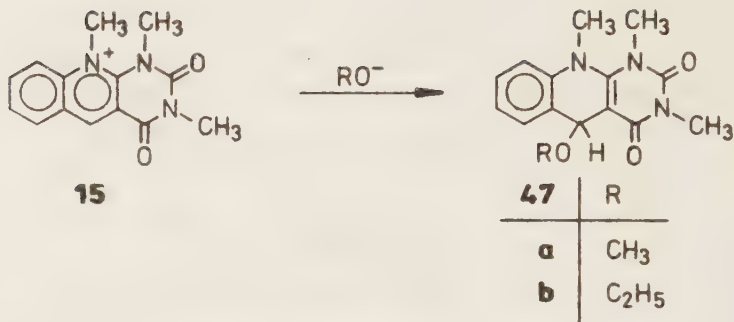


Abb. 17: UV/VIS von 15 nach Zugabe von äquimolaren Mengen Alkoholat

Im Gegensatz zur Pseudobase 39 lassen sich die Alkoxyverbindungen 47a,b in Abwesenheit von H_2O und anderen Konkurrenz-nucleophilen präparativ gewinnen und einer weiteren spektralen Charakterisierung zuführen.



Die ¹H-NMR-Spektren bestätigen den elektronenspektroskopischen Befund der 5-Addition.

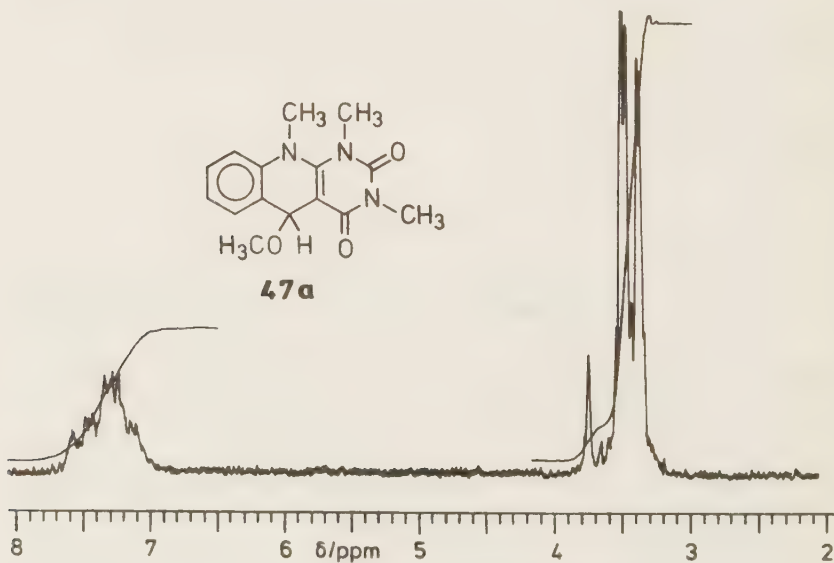


Abb. 18: ¹H-NMR-Spektrum von **47a** in CDCl₃

Abb. 18 zeigt das ^1H -NMR-Spektrum des Methylatadduktes 47a. Das C(5)-H wird durch das Signal bei $\delta = 3,75$ ppm repräsentiert, die OCH_3 -Gruppe ergibt ein Drei-Protonen-Singulett bei 3,5 ppm.

Der Versuch einer 10a-Addition von Alkoholat mißlingt dagegen. Weder exzessiver Überschuß von Alkoholat noch mäßiges Erwärmen ergeben einen anderen Reaktionsverlauf als die 5-Adduktbildung.

Daraus kann geschlossen werden, daß es sich bei der 10a-Ringöffnung im stark alkalischen Milieu um einen Sonderfall handeln muß, der durch die Möglichkeit der irreversiblen Spaltung des Carbinols zu 18 bedingt ist.

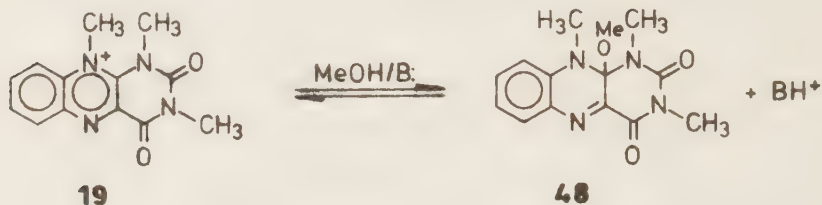
In Gegenwart von H_2O entsteht aus 47a,b, analog dem in Schema 6 aufgezeigten Mechanismus, das Keton 40.

4.3. Reaktionen mit Aminen

Hinsichtlich der Reaktivität von 15 gegenüber Aminen waren neben den bereits geschilderten Umsetzungen mit Hydroxylionen und Alkoholat, welche die 5-Position als bevorzugten Angriffsort nucleophiler Reagentien ausweisen, die Untersuchungen von Müller⁷³⁾ am Flaviniumsystem 19 in Betracht zu ziehen.

Dort werden Reaktionen von 19 in verschiedenen Alkoholen und Acetonitril mit Aminen beschrieben. Der Autor gelangt zu dem Schluß, daß in einer durch Protonenzugabe reversiblen Reaktion in Gegenwart von Alkoholen Amine nicht mit dem

Flavin reagieren, sondern lediglich als Protonenakzeptoren bei der Alkoholaddition in 10a reagieren:



In Acetonitril dagegen wird in einer wesentlich langsameren, irreversiblen Reaktion die Spiroverbindung 36 gebildet, was unter anaeroben Bedingungen nur in Anwesenheit von Wasser verständlich ist, da für die Umwandlung zu 36 die Addition von Hydroxylionen⁵⁵⁾ in 10a Voraussetzung ist. Auf einen Mechanismus und die Rolle der Aminkomponente wird von Müller nicht näher eingegangen.

Entsprechend diesen Untersuchungen waren bei der Reaktion des Deazaflavinium-kations 15 in Gegenwart von Alkoholen in reversibler Reaktion 5-Alkoxyaddukte zu erwarten, dagegen sollten sich bei Umsetzungen in Acetonitril unter OH⁻-Addition schließlich die stabilen Endprodukte 40 und 18 bilden.

Alternativ zu den zitierten Untersuchungen, in denen dem Amin ausschließlich eine Protonenakzeptorfunktion zukommt, war allerdings auch eine Addition von Amin zu diskutieren, die im Falle des Deazaflavinium-kations 15 in 5-Position erfolgen sollte.

Dieser Reaktionsverlauf wurde zunächst elektronenspektroskopisch verfolgt. Wird 15 in Methanol bzw. Isopropanol mit verschiedenen wasserfreien Aminen (Methylamin, Dimethylamin, Diaethylamin, Benzylamin, Morpholin) zur Reaktion gebracht bilden sich sofort neue Absorptionsmaxima aus. Diese Umsetzung ist durch Protonenzugabe reversibel zu gestalten.

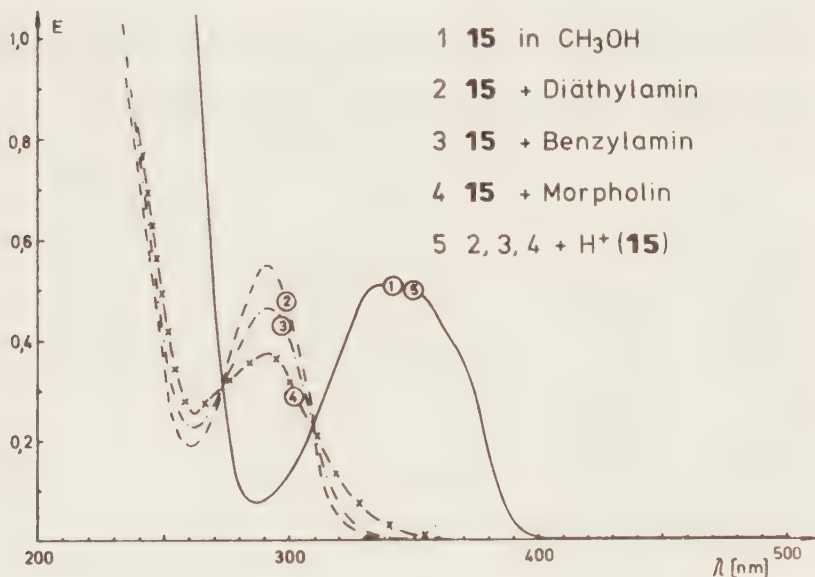


Abb. 19: UV/VIS der Verbindungen 47c-e in CH₃OH

Die Absorptionsmaxima sind nahezu identisch mit denen der 5-OR-Addukte 47a,b ($\lambda = 290/232$). Gegen eine Bildung von Methanol- bzw. Isopropanol-addukten in Gegenwart der Amine sprach die hohe Reaktionsgeschwindigkeit dieser Umsetzungen. Die Alternative einer Addition von Amin in der 5-Position erfuhr eine weitere Bestätigung durch die Tatsache, daß der Versuch, unter präparativen Bedingungen ein 5-OCH₃-Addukt zu fassen, mißlang.

Um einen schlüssigen Beweis für eine 5-Addition von Aminen zu erhalten, war es wünschenswert ein solches Addukt zu isolieren, um es weiter spektral zu charakterisieren. Dies erwies sich jedoch als schwierig, da sich diese Addukte nur in Lösung in Gegenwart überschüssigenamins als stabil erwiesen. Durch Einleiten von gasförmigem Amin über Trockentürme in Lösungen des Kations 15 in CDCl₃ bzw. CD₃OH gelang es schließlich, die 5-Addukte der ¹H-NMR-spektroskopischen Untersuchung zuzuführen.

Abb. 20 zeigt die ¹H-NMR-Spektren der Reaktion von 15 mit Methylamin bzw. Dimethylamin (49a,b) in CDCl₃.

Das C(5)-H wird in beiden Fällen durch ein Signal bei $\delta = 5,0$ ppm repräsentiert und ist im Vergleich zu den 5-Addukten 47a,b (C(5)-H: $\delta = 3,75$ ppm) ins tiefere Feld verschoben. Die N(5')-CH₃-Gruppe von 49a ergibt ein Drei-Protonen-Singulett bei $\delta = 2,15$ ppm, die N(5')-Dimethylgruppierung von 49b ein Sechs-Protonen-Singulett bei $\delta = 2,45$ ppm.

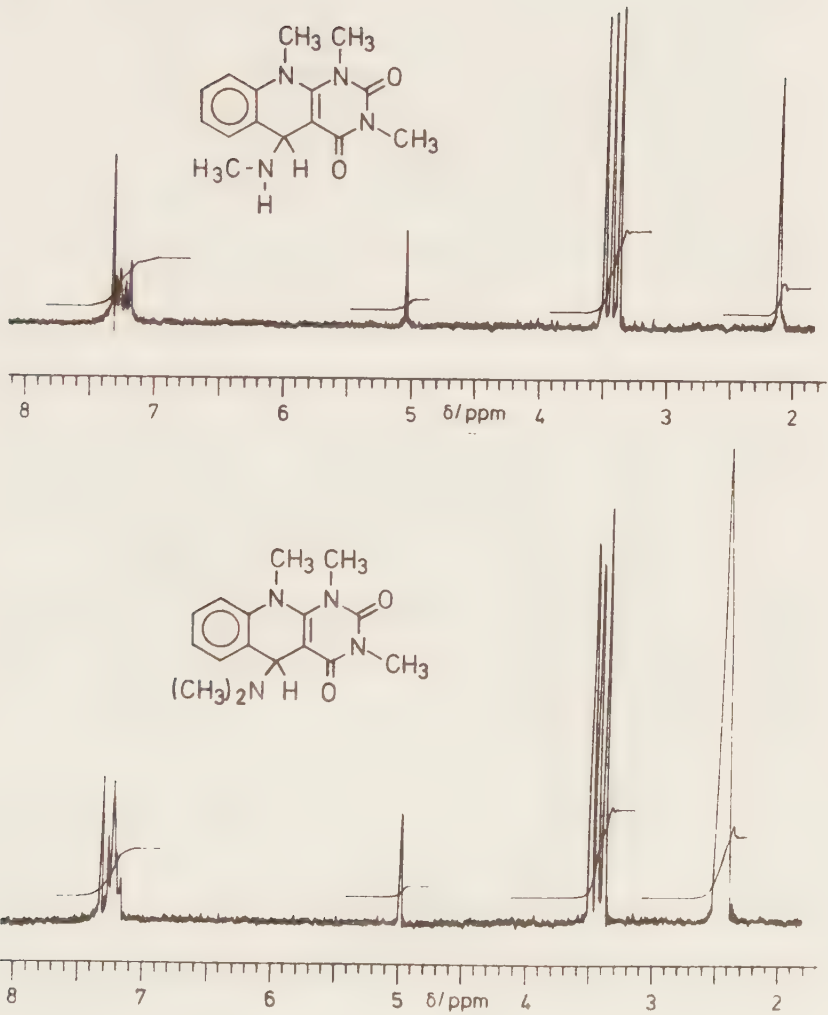


Abb. 20: ^1H -NMR-Spektren von 49a (oben), 49b (unten) in CDCl_3

Diese Untersuchungen zeigen, daß das Deazaflavinium-kation 15 im Gegensatz zu dem Flavinium-kation 19 in der Lage ist, mit den genannten Aminen 5-Addukte zu bilden. Diese Ergebnisse zugrunde gelegt, war die oben zitierte Addition von Alkohol unter Mitwirkung der Base als Protonenakzeptor nur dann zu erwarten, wenn die Base selbst nicht additionsfähig ist. Modellhaft für diesen Reaktionstyp wurden die sterisch gehinderte Base Diisopropylaminoäthan sowie Pyridin mit 15 in Methanol zur Reaktion gebracht.

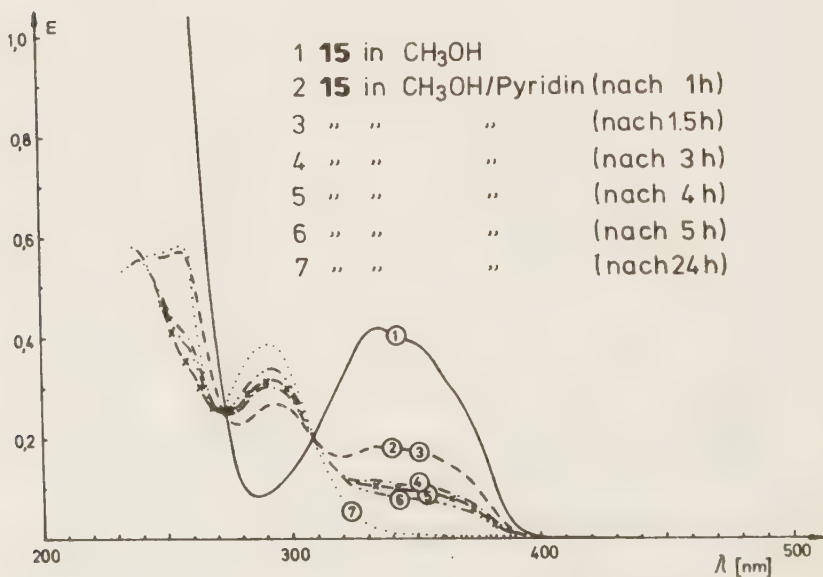
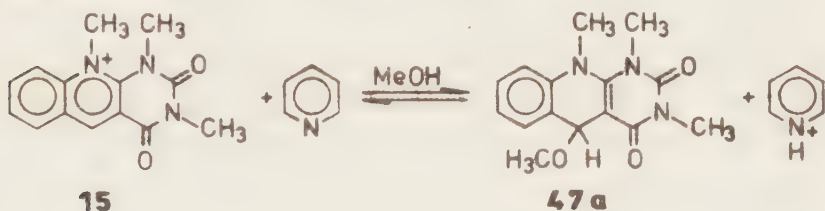


Abb. 21: UV/VIS der Umsetzung von 15 in Methanol/Pyridin

Wie aus Abb. 21 hervorgeht, ist die Umsetzungsgeschwindigkeit der Reaktion von 15 in Methanol/Pyridin sehr langsam. Die gleiche Feststellung gilt für den Einsatz von Diisopropylaminoäthan. Wird 15 mit Diisopropylaminoäthan und Pyridin in nichtalkoholischen Lösungsmitteln zur Reaktion gebracht, findet keine Umsetzung statt, während bei den additionsfähigen Aminen die Wahl des Lösungsmittels keinen Einfluß auf den Reaktionsablauf ausübt.

Daraus kann geschlossen werden, daß im Falle der nicht-additionsfähigen Basen diese lediglich als Protonenakzeptoren fungieren. Der Mechanismus dieser Reaktion von 15 in einem Methanol/Pyridin-Gemisch läßt sich wie folgt darstellen:



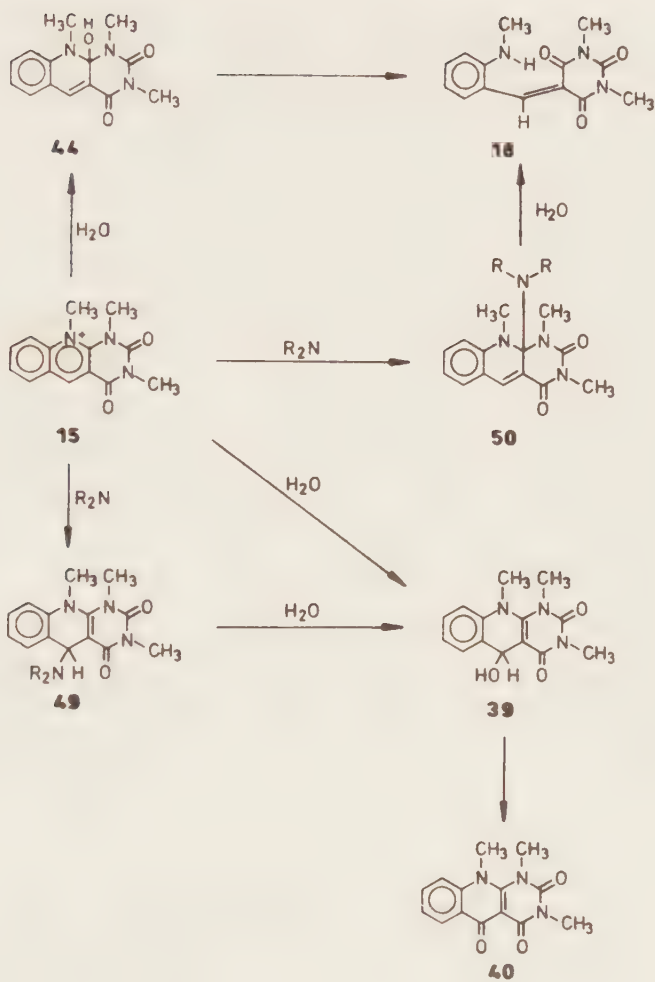
Aus den ¹H-NMR-Spektren und der durch Elektronenspektrum dokumentierten Kinetik war, innerhalb der Fehlergrenze dieser spektroskopischen Methoden, ein einheitlicher Reaktionsverlauf unter Bildung der 5-Addukte zu belegen, Hinweise auf Konkurrenzreaktionen waren aus diesen Untersuchungen nicht zu erhalten.

Im präparativem Maßstab nimmt diese Reaktion jedoch nicht den gleichen Verlauf:

Das Reaktionsgemisch aus 15 mit Aminen im wasserfreien Milieu ergab beim Verdünnen mit Wasser und Stehen an der Luft neben der 5-Keto-Verbindung 40 als Hauptprodukt auch die Benzyliden-barbitursäure 18.

Beide Systeme sind die stabilen Folgeprodukte ihrer Pseudobasen, der 5-OH- bzw. 10a-OH-Verbindungen. Daraus muß geschlossen werden, daß in untergeordnetem Maßstab neben den 5-Aminaddukten auch 10a-Aminaddukte entstehen, die nachfolgend hydrolytisch zu 18 weiterreagieren. (Schema 7) Hinsichtlich der Reaktivität des Deazaflavinium-kations 15 gegenüber Aminen läßt sich somit folgendes festhalten:

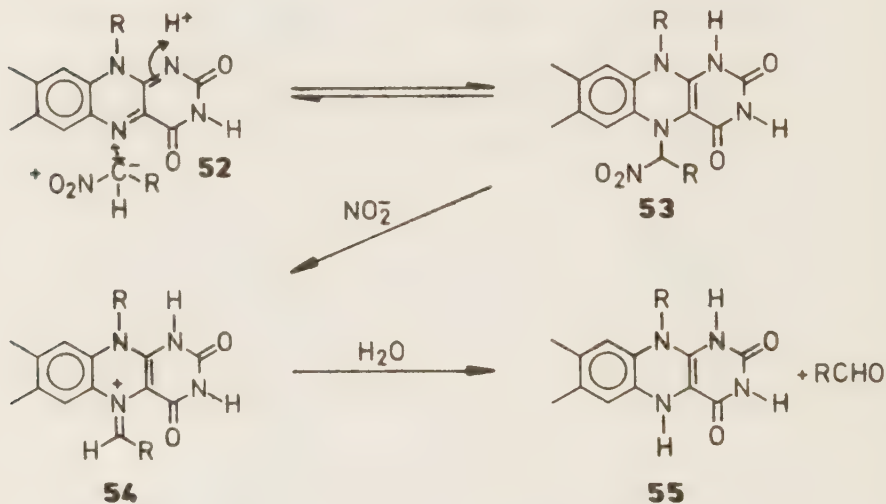
Die schon nachhaltig belegte Präferenz der 5-Position als Angriffsort nucleophiler Reaktionspartner wird bestätigt. Im Gegensatz zum Flavinium-System 19 ist 15 in der Lage mit Aminen kovalente Addukte zu bilden. Zu der bei dem Reaktionsverhalten von 19 beschriebenen Alkoholaddition in Gegenwart von additionsfähigen Aminen kommt es nicht. Diese Reaktion läßt sich bei 15 erst durch den Einsatz von nicht-additionsfähigen Aminen (Diisopropylaminoäthan, Pyridin) darstellen.



Schema 7

5. Reaktionen des Deazaflavinium-kations mit Carbanionen

Wie gezeigt wurde⁷⁴⁾, können Nitroalkan-Anionen der D-Aminosäure-oxidase und Glucose-oxidase als Substrat der Zwei-Elektronen-Reduktion von Flavocoenzymen dienen, wobei das Substrat zu Aldehyd und Nitriten oxidiert wird. Die Autoren schlagen für diese Carbanionenreaktion mit Fl_{ox} folgenden Mechanismus vor:



Zur Stützung dieser These der flavinabhängigen Substratdehydrierung, die während des Redoxvorganges eine kovalente Addition des Substrats an das Flavocoenzym diskutiert, wäre die Charakterisierung von 5-Addukten mit Carbanionen von besonderer Bedeutung. Alle diesbezüglich bekannt gewordenen

Modellstudien an Flavinen deuten zwar auf kovalente Intermediate hin, der Beweis dafür - Isolierung eines kovalenten N(5)-Adduktes- fehlt allerdings.

Auch die Untersuchungen an Deazaflavinen mit Nitroalkan-Anionen^{75,76)} und Cyanidionen⁶⁶⁾ sprechen für das Vorliegen von 5-Addukten, wobei allerdings die beim Flavin geltenden Einschränkungen auch hier zutreffen.

Wie bereits gezeigt werden konnte, bildet das Deazaflavinium-kation 15 mit einer Reihe von Nucleophilen stabile, kovalente 5-Addukte. Dies war auch bei der Reaktion von 15 mit Carbanionen zu erwarten, so daß diese Addukte in ihrem chemischen und spektralen Eigenschaften charakterisierbar sein sollten. Die Untersuchung solcher Verbindungen bezüglich kovalenter 5-Intermediate aber ergäbe, zumindest für die Studien an Deaza-FMN bzw. Deaza-FAD, eine Vergleichsmöglichkeit, aufgrund derer Rückschlüsse auf die 5-Addition bei der Flavinkatalyse möglich sein sollten.

5.1. Addition von Nitromethan

Walsh et al.^{75,76)} beschreiben bei der Untersuchung der Reaktion von Nitroäthan mit Deaza-riboflavin, daß in einem pH-Bereich um 5 die 396 nm-Absorption der Ausgangsverbindung in ein neues Maximum bei 311 nm ($\epsilon = 8000-10000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) übergeht. Sie diskutieren an Hand der hypsochromen Verschiebung des langwelligen Maximums die Bildung eines 5-Nitroäthyl-dihydro-deazaflavins. Im Falle von 15 ändern

sich bei Zusatz von Nitromethan die Absorptionsmaxima in diesem pH-Bereich nicht. Die von den oben erwähnten Autoren beschriebene hypsochrome Verschiebung des langwelligen Maximums erfolgt bei 15 in einem Puffer bei pH= 8 unter Ausbildung eines neuen Maximums bei 308 nm ($\epsilon = 11700 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Wird diese Reaktion in präparativem Maßstab nachvollzogen, so beginnt nach ca. 36 Std. eine Substanz auszukristallisieren, die durch MS.-, IR.- und ^1H -NMR-Spektroskopie als 5-Nitromethanaddukt 51 charakterisiert werden konnte.

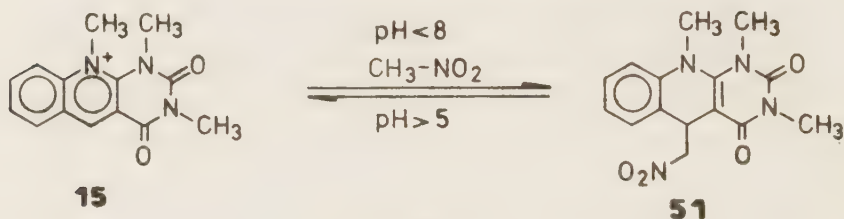


Abb. 22 zeigt das ^1H -NMR-Spektrum der Verbindung in CDCl_3 . Im Bereich von 4,5-4,75 ppm erscheint ein " Multiplett ", dessen Integral drei Protonen entspricht. Es gliedert sich auf in ein Triplett für das C(5)-H und ein ABX-System für die C(5)- CH_2 -Gruppe ($J = 14 \text{ Hz}$).

Der Vergleich der Elektronenspektren von authentischem 51 mit dem von Walsh et al.^{75,76}) vermuteten 5-Nitroäthyl-dihydro-deazaflavin ergibt eine Übereinstimmung in den langwelligen Maxima, so daß die von den Autoren angegebene Struktur als gesichert angesehen werden muß.

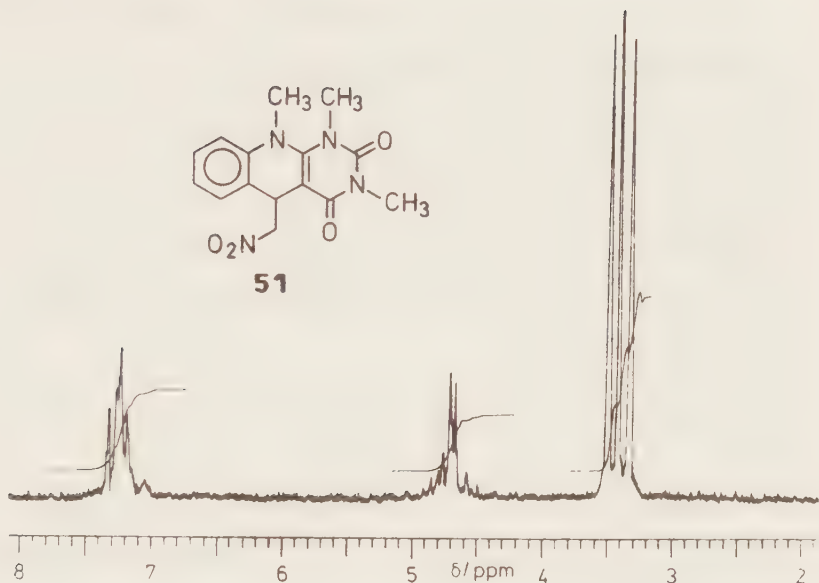


Abb. 22: ^1H -NMR-Spektrum von 51 in CDCl_3

Der bei der Reaktion⁷⁴⁾ von Fl_{ox} mit Nitroalkan-Anionen als Substrat formulierte Mechanismus der Bildung von Dihydroflavin und Aldehyd sowie Nitritonen kann auf die Deazaflavinreihe nicht übertragen werden, da daß für die Bildung des Imins 54 notwendige freie Elektronenpaar in der N(5)-Position bei der Deazareihe fehlt.

Das 5-Addukt 51 ist darüberhinaus im Gegensatz zum 5-Nitro-äthyl-dihydro-deazaflavin stabil, was aufgrund der N(1,10)-

Blockierung verständlich ist. Erst durch Zugabe von Mineralsäuren läßt sich aus 51 quantitativ 15 zurückgewinnen.

5.2. Addition von Methylketonderivaten

Über die Fähigkeit von Pyridinium⁷⁷⁾-, Chinolinium- und Isochinolinium⁷⁸⁾- sowie Acridinium-salzen⁷⁹⁾ mit Methyl- und Methylenketonen Addukte auszubilden, ist schon frühzeitig berichtet worden, während zu Beginn unserer Arbeiten keine gleichlautenden Untersuchungen an Flavinium-salzen und Deazaflavinen bekannt waren.

Wie schon Kröhnke et al.⁷⁸⁾ bei Reaktionen von N-Methylchinolinium-bromid mit Methyl- und Methylenketonen berichten, sind diese Addukte sehr instabil. Sie zersetzen sich besonders leicht unter Lichteinwirkung und sind schon durch Zugabe von schwachen Säuren in die Ausgangsverbindungen zurückzuführen.

Die Reaktionen des Deazaflavinium-kations 15 mit Aceton, Acetophenon und Desoxybenzoin waren vor allem unter dem Aspekt interessant weitere stabile Carbanionenaddukte zu isolieren, um für Modellstudien an Flavinen und Deazaflavinen - hinsichtlich kovalenter Carbanionen-Intermediate - authentisches Vergleichsmaterial zur Verfügung zu stellen.

Aufgrund dieser Prämisse wurde 15 in präparativem Maßstab mit Ketonen umgesetzt.

Dabei konnte festgestellt werden, daß die CH-Acidität der Reaktionspartner selbst nicht ausreicht, um bei neutralem pH

die gewünschte Adduktbildung zu initiieren. Durch Umsetzung von 15 mit den entsprechenden Carbanionen lassen sich dagegen in zwei Fällen Addukte isolieren, deren spektrale Charakterisierung - MS., IR., NMR - die Bildung des 5-Acetophenonadduktes 56a bzw. des 5-Desoxybenzoinadduktes 56b ergibt.

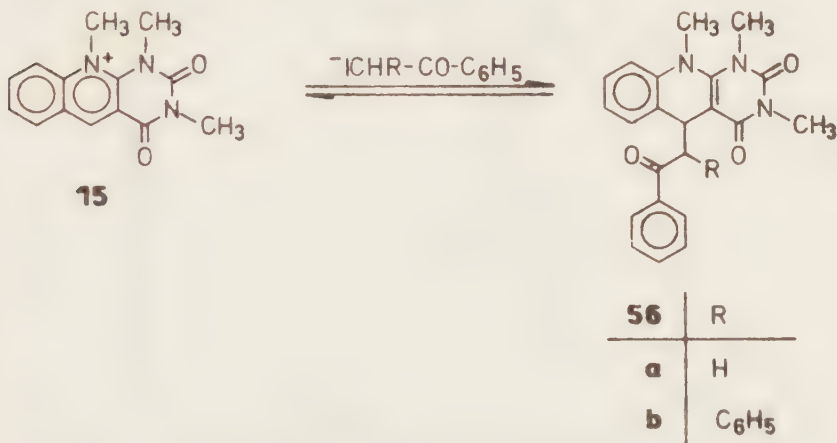


Abb. 23 zeigt das ^1H -NMR-Spektrum von 56a in CDCl_3 . Das C(5)-H von 56a ergibt aufgrund der Kopplung mit der CH_2 -Gruppierung des Acetophenonrestes ein Triplet bei $\delta = 4,7$ ppm, die CH_2 -Gruppe selbst sollte aufgrund des chiralen Zentrums C(5) durch ein AB-System charakterisiert sein. Allerdings fällt eine Hälfte des AB-Systems mit den Signalen der N(1,3,10) CH_3 -Gruppen zusammen und läßt sich somit nicht eindeutig lokalisieren. Die beiden zur Ketofunktion des Acetophenons

o-ständigen Aromatenprotonen sind deutlich von den übrigen Ar-H abgesetzt und erscheinen als Multiplett bei $\delta = 7,8-8,0$ ppm.

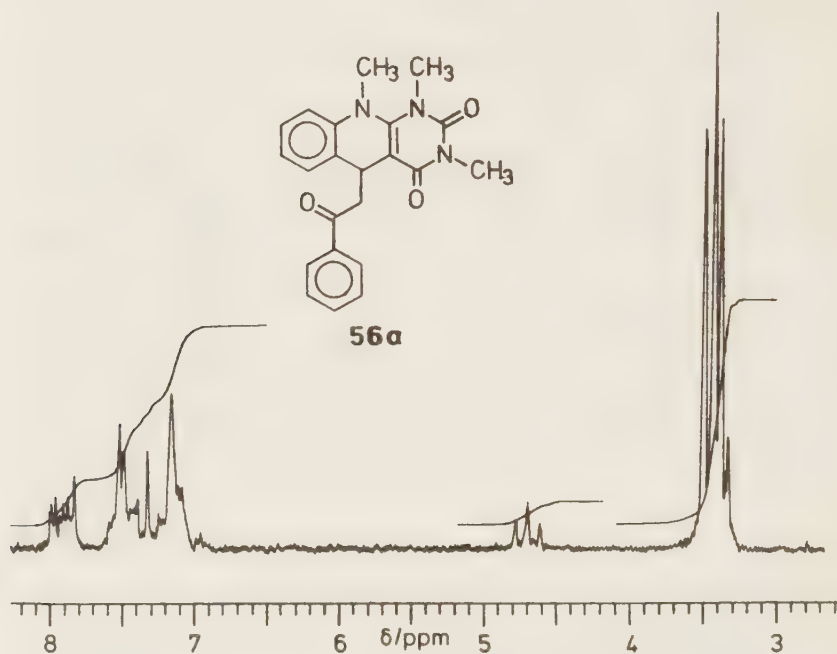
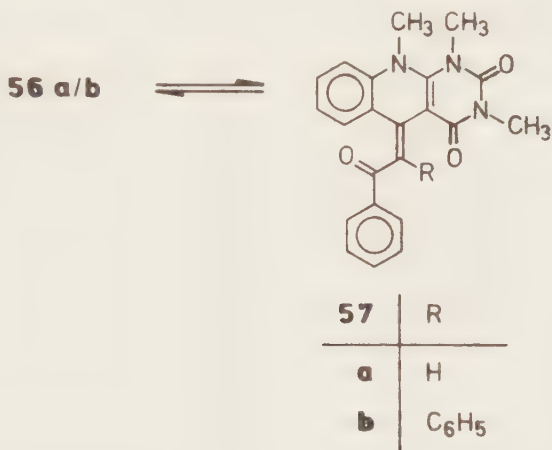


Abb. 23: ^1H -NMR-Spektrum von **56a** in CDCl_3

Ein 5-Acetonaddukt von **15** konnte nicht isoliert werden, sondern war lediglich elektronenspektroskopisch nachweisbar. In jedem Fall ist die Adduktbildung durch Protonenzugabe reversibel zu gestalten. Auffallend war darüberhinaus, daß die weißen Kristalle von **56a,b** sich beim Stehen an der Luft

leicht gelb färben. Diese auch schon von Kröhnke et al.⁷⁸⁾ bei den Ketonaddukten von Chinoliniumsalzen beschriebene Gelbfärbung ließ auf die Bildung der Ylidenverbindungen 57a,b schließen:



Um die Ylidenbildung zu beweisen, wurde versucht diese Oxidation quantitativ zu gestalten. Der Einsatz von Dehydrierungsmitteln wie p-Nitroso-dimethylanilin zeitigte keinen Erfolg, es ließen sich lediglich die Ausgangsverbindungen zurückgewinnen.

5.3. Reaktionen mit Cyanid

In einer kürzlich veröffentlichten Studie beschreiben Jorns und Hersh⁶⁶⁾ die Reaktion von Cyanidionen mit freiem und proteingebundenem Deazaflavin. Sie finden, daß das Deazaflavin lediglich im proteingebundenem Zustand mit CN⁻ unter

5-Addition reagiert, im freien Zustand dagegen nicht.

Das Deazaflavinium-kation 15 hingegen setzt sich in alkalischer Lösung (pH= 9) mit CN^- unter Bildung des 5-Adduktes 58 um, dies konnte mit Hilfe der üblichen spektroskopischen Methoden gesichert werden.

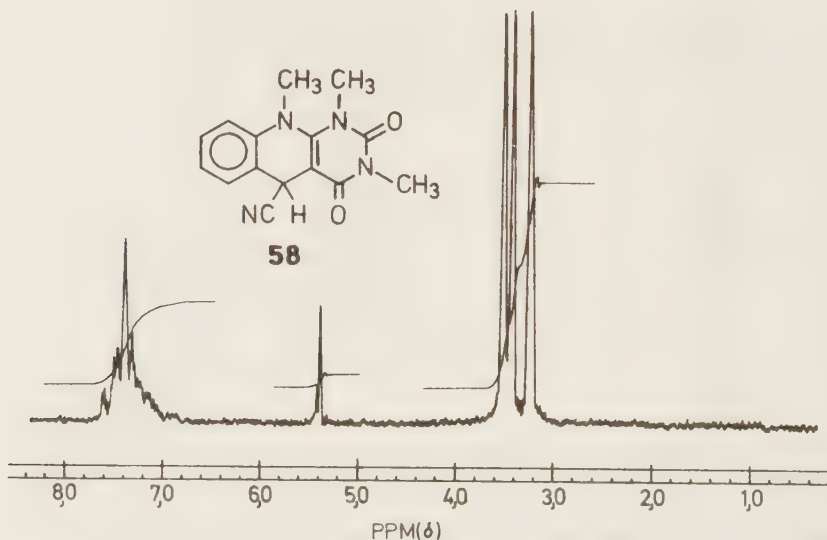


Abb. 24: ^1H -NMR-Spektrum von 58 in DMSO_{d_6} .

Wie aus Abb. 24 hervorgeht, ergibt das C(5)-H ein Signal bei $\delta = 5,4$ ppm und ist durch die Nachbarschaft der CN-Gruppe im Vergleich zu allen bisherigen 5-Addukten am weitesten ins tiefe Feld verschoben.

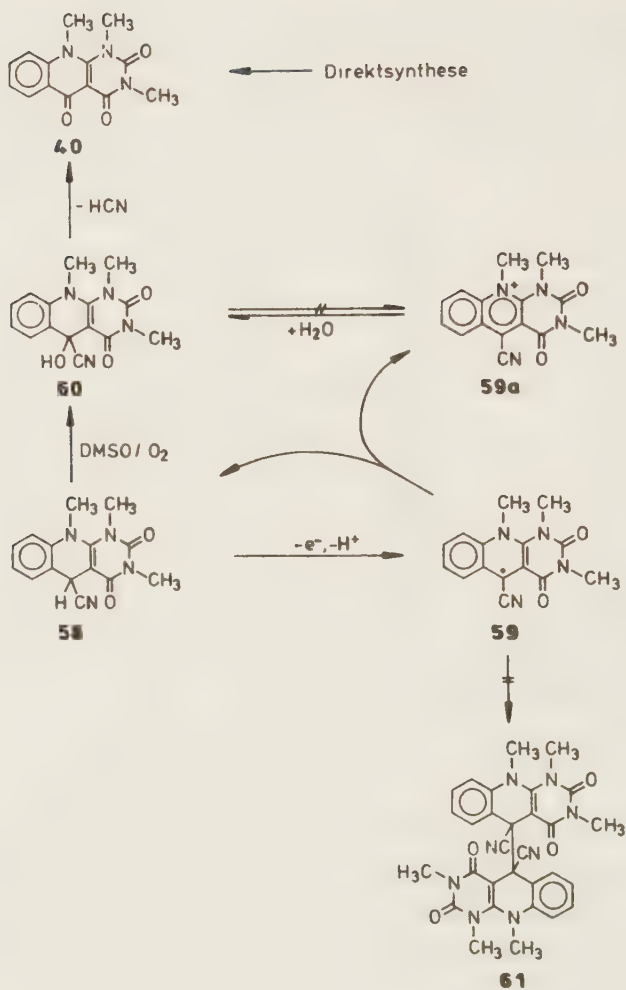
Beim Auflösen von 58 in DMSO_{d_6} stellten wir fest, daß sich

die Lösung über gelb nach rot färbt und sich trübt. Wird 58 in Methanol mit einem Überschuß an Cyanidionen versetzt, kann die gleiche Farbänderung beobachtet werden. Auch die Kristalle selbst färben sich beim Stehen an der Luft rötlich. In allen drei Fällen kann als stabiles Endprodukt die 5-Ketoverbindung 40 isoliert werden. Durch rückfließendes Erhitzen von 58 in DMSO kann die Bildung von 40 quantitativ gestaltet werden.

Ein Literaturvergleich mit den strukturverwandten 10-Methyl-acridinium-salzen⁸⁰⁻⁸³) ergab einen Hinweis auf den möglichen Mechanismus der Reaktion von 58 zu 40, da die oben beschriebene Farbänderung in DMSO und CN^- -Überschuß auch bei 9-Cyano-10-methyl-acridanen gefunden wird und in zwei Fällen^{82,83}) als Endprodukt ein 10-Methyl-acridon resultiert.

In Schema 8 werden in Anlehnung an den in der Literatur bei Acridinen beschriebenen Mechanismus die möglichen Reaktionswege von 58 aufgezeigt.

Aus dem Dihydro-deazaflavinsystem des Cyanidadduktes ist in Analogie zu entsprechenden Acridanen⁸²) die Bildung des Neutral-Radikals 59 zu erwarten, was ESR-spektroskopisch untersucht wurde. Die Entstehung eines Radikals konnte nachgewiesen werden, die notwendigen experimentellen Bedingungen - hohe Modulationsamplitude - ließen seine nähere Charakterisierung jedoch nicht zu. Die beiden aus der Flavin- bzw. Deazaflavinchemie bekannten Folgereaktionen: Disproportionierung und Dimerisierung werden nicht gleichzeitig realisiert.



Schema 8

Das als typisches Photoprodukt bei Deazaflavinen auftretende Dimere vom Typ 61 (s.S. 91) wird hier nicht gebildet. Die Pseudobase 60 ist als kovalentes Hydrat in einer irreversiblen Reaktion infolge Disproportionierung von 59 zu 59a entstanden. Anders als im Falle der C(5)-H Pseudobase (s.S. 57) ist dieses " Cyanhydrin " jedoch nicht pH-abhängig mit dem Kation im Gleichgewicht, sondern zerfällt unter HCN-Abspaltung zum stabilen Keton 40 .

5.4. Reaktion mit N,N-Dimethylanilin

Als Spezialfall der Knüpfung einer C-C-Bindung ist die Reaktion des Deazaflavinium-kations 15 mit N,N-Dimethylanilin anzusehen. Eine mögliche 5-Addition über das C(4) des Anilinderivates, wie sie in der Literatur bei Pyrimido-chinolin⁷¹⁾ und Acridinen⁸⁴⁾ beobachtet wird, würde die Elektrophilie von 15 in der 5-Position unterstreichen.

Während im sauren und neutralen Milieu keine Umsetzung festzustellen war, zeigt im Puffer bei pH= 8 eine Farbänderung von farblos nach tiefblau-violett eine Reaktion an.

Die spektrale Charakterisierung - MS., IR., NMR. - des mit Petroläther ausgefällten Reaktionsproduktes, ergab die Bildung des 5-(4-Dimethyl-aminophenyl)-adduktes 62.

Wie das ¹H-NMR-Spektrum von 62 (Abb. 25) zeigt, wird das C(5)-H durch ein Signal bei $\delta = 5,25$ ppm charakterisiert, die C(1)-Dimethylamino-Gruppierung des Restes ergibt ein Sechs-Protonen-Singulett bei $\delta = 3,5$ ppm.

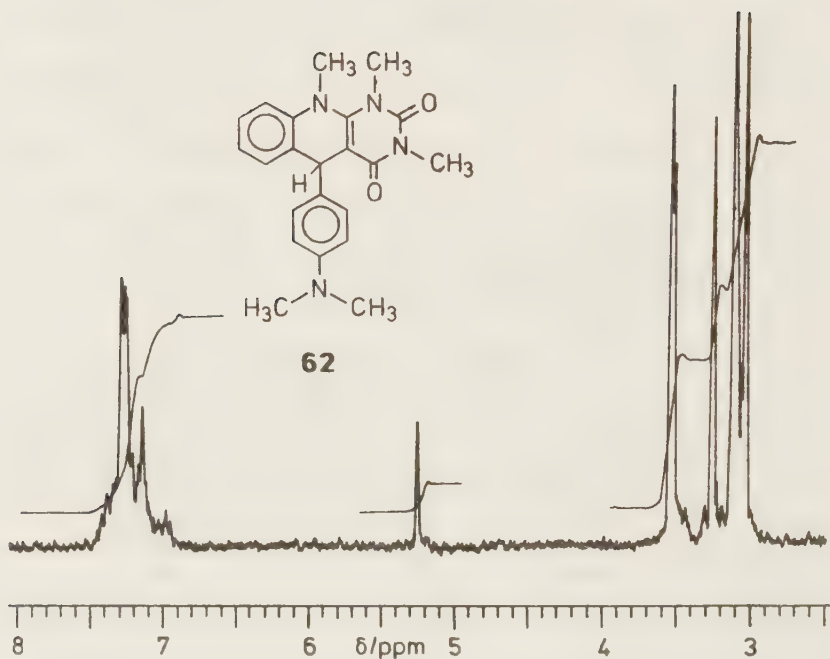
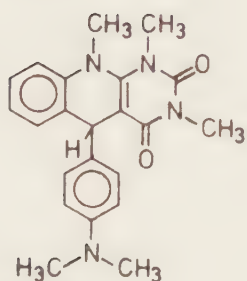
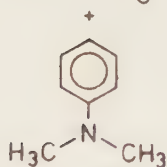
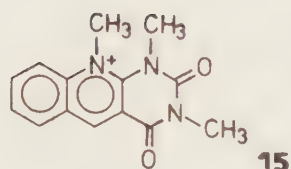


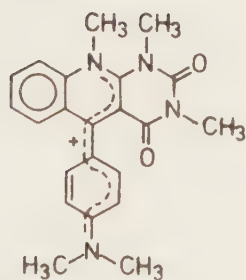
Abb. 25: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **62** in CD_3CN

Die tiefblau- violette Färbung des Reaktionsgemisches ist mit der Struktur von **62** allerdings nicht in Einklang zu bringen.

Sie läßt sich nur durch Autoxidation zu **63** erklären, wobei schon Spuren dieser Verbindung eine solche Färbung bewirken sollten.



62



63

Das Redoxsystem 62 ⇌ 63 konnte durch Einwirkung von Reduktionsmitteln auf das Gleichgewicht bestätigt werden. Nach Zugabe von HSO₃⁻ zu einer Lösung in Puffer pH= 5 verschwindet die für 63 charakteristische langwellige Absorption (490 nm), während das langwellige Maximum bei 318 nm, das eine für Dihydro-deazaflavine typische Absorption darstellt,

vollständig ausgebildet wird.

6. Photochemische Reaktionen des Deazaflavinium-Kations

Aus der überraschenden Tatsache, daß die Chemie von proteingebundenem Flavochinon im Grundzustand und freiem Flavochinon im lichtangeregten Zustand viele Gemeinsamkeiten aufweist⁸⁵⁾, leitet sich der Anspruch der Flavin-Photochemie ab.

Das heißt, sie soll Rückschlüsse auf die Chemie von proteingebundenem Flavochinon im Grundzustand ermöglichen, unter präparativ praktikabeleren Bedingungen.

Die Photochemie an Deazaflavinen - Gegenstand ausführlicher Untersuchungen der Diss. von H.J. Duchstein³⁶⁾, mit besonderer Berücksichtigung der Stereochemie von dimeren Deazaflavinen - ist unter zwei Gesichtspunkten zu sehen: Reaktivität im Triplettzustand im Vergleich zu Flavinen - Modellcharakter der Deazaflavine - und Korrelation zu den Reaktionen von proteingebundenen Deazaflavinen.

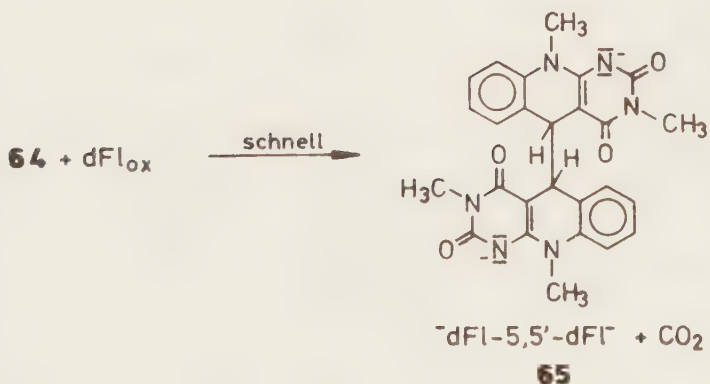
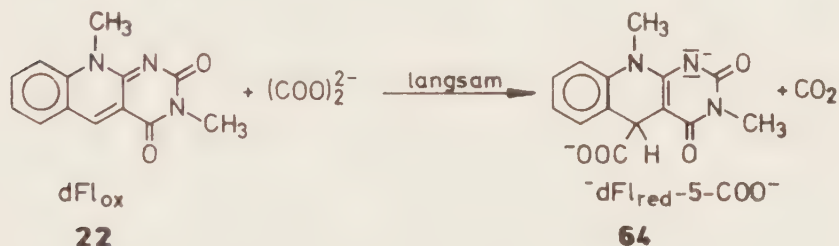
Die hier beschriebenen photochemischen Reaktionen des Deazaflavinium-Kations 15 wurden vorgenommen, um die Reaktivität dieses Systems im Vergleich zu N(1)- nicht blockierten Deazaflavinen beurteilen zu können.

Sie waren in Anlehnung und in Analogie zu den zitierten Studien an Deazaflavinen zu führen, da Ergebnisse photochemischer Reaktionen mit Flavinium-Salzen bisher nicht vorliegen⁸⁶⁾.

Die bisherigen Untersuchungen am lichtangeregten 3,10-Dimethyl-deazaflavin 22 haben in Abhängigkeit vom Substrat zwei Reaktionswege aufgezeigt:

Bildung von 5,5'-Dimeren und Substrataddukten.

Die Bildung des 5,5'-Dimeren 65 in verschiedenen Substraten (z.B. Oxalat) wird folgendermaßen erklärt:



Eine Addition des Substrats (z.B. Cycloheptatrien, Phenoxyessigsäure) in der 5-Position erfolgt in der Regel dann, wenn diese Addukte thermodynamisch und kinetisch stabil sind.

Diese beiden Wege - Dimerenbildung bzw. Adduktbildung - sollten auch bei der Umsetzung des Deazaflavinium-kations 15 zu realisieren sein. Die zu erwartenden Verbindungen sollten darüberhinaus aber reoxidationsstabiler sein, wie die Dunkelreaktionen mit 15 bisher eindeutig gezeigt haben.

Betrachtet man die Elektronenspektren der Umsetzungen von 15 mit N,N'-Dimethylglycin sowie Phenoxyessigsäure als Substrat (Abb. 26) so fällt auf, daß sich bei isosbestischem Kurvenverlauf nach beendeter Reaktion bei 308 nm und 314 nm zwei neue Maxima ergeben.

Ein Vergleich mit den Elektronenspektren der 3,10-Dimethyldeazaflavin-photoprodukte³⁶⁾ wies im Falle der Reaktion von 15 mit N,N'-Dimethylglycin als Substrat auf eine 5,5'-Dimerenbildung hin, mit Phenoxyessigsäure dagegen auf eine Substrataddition.

Unter präparativen Bedingungen konnte dies durch spektrale Charakterisierung der isolierten Produkte bestätigt werden, wobei der Mechanismus dieser Reaktionen in Analogie zu den zitierten Untersuchungen zu sehen ist³⁶⁾.

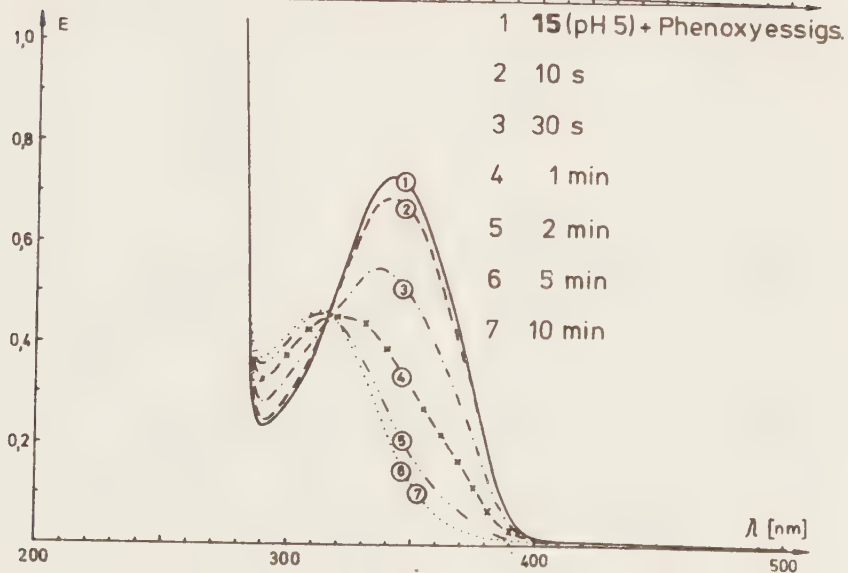
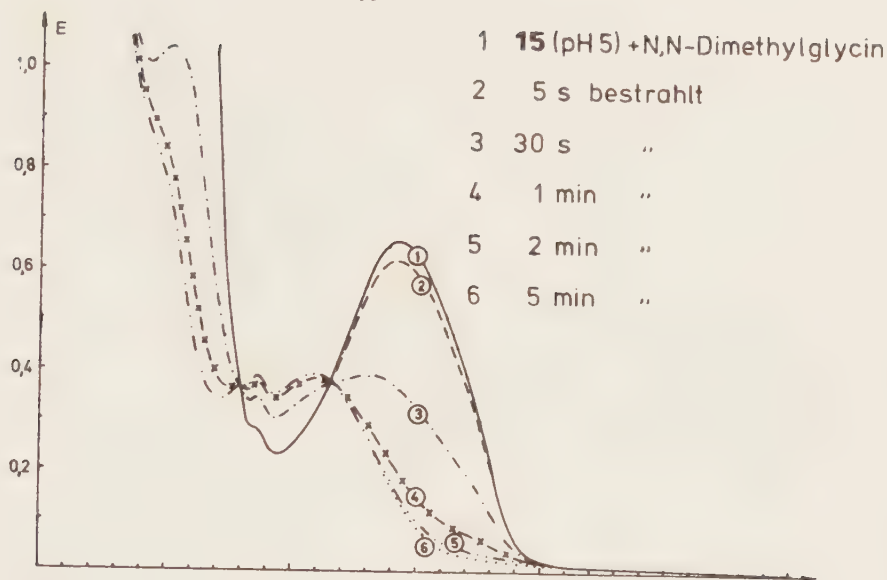
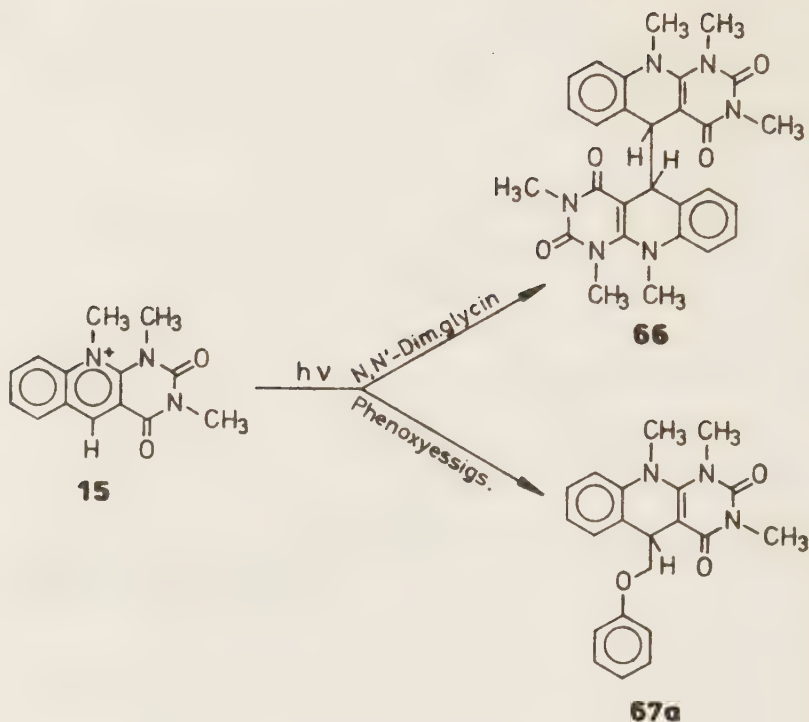


Abb. 26: UV/VIS der Dimerenbildung (oben), der Addukt b. (unten)



In Abb. 27 ist das ^1H -NMR-Spektrum des 5,5'-Dimeren 66 in DMSO_{d6} wiedergegeben, die Signale für das C(5)-H und das C(5')-H fallen aufgrund vollständiger chemischer Äquivalenz bei $\delta = 4,1$ ppm zusammen.

Aufgrund der Chiralität von C(5) und C(5') waren für 66 zwei stereochemisch unterschiedliche Spezies zu erwarten: die Mesoform 66a und das Enantiomerenpaar von 66b.

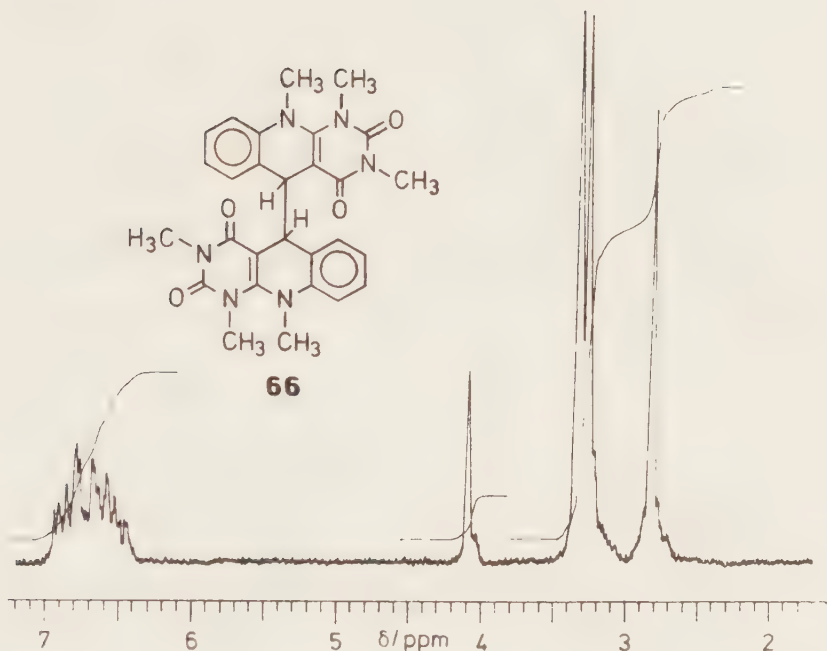
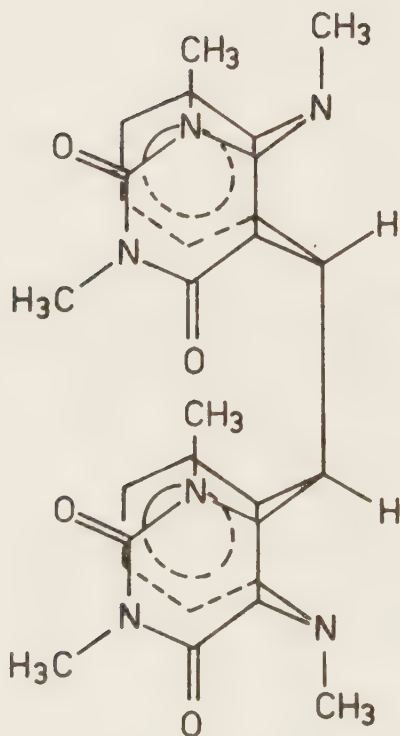
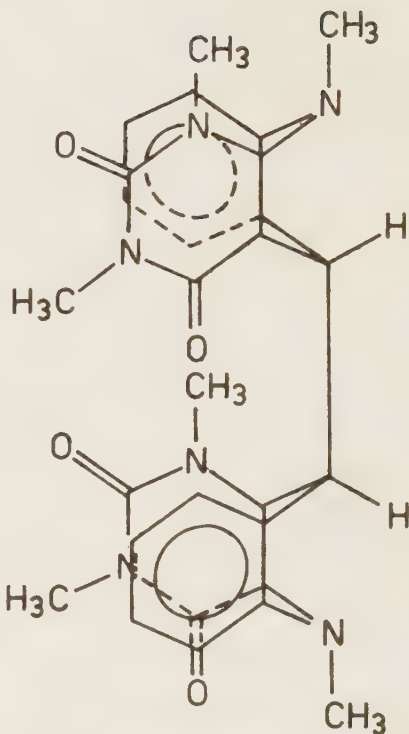


Abb. 27: ^1H -NMR-Spektrum von 66 in $\text{DMSO}_{\text{d}6}$

Bei den entsprechenden N(1)-H-Dimeren³⁶⁾ ließ sich ^1H -NMR-spektroskopisch die Bildung eines Gemisches der Diastereomeren 66a, 66b nachweisen. Im vorliegenden Falle (Abb. 27) handelt es sich jedoch um ein einheitliches Isomeres. Aussagen bezüglich der Zuordnung zu 66a oder 66b sind zur Zeit noch nicht möglich.



66a: (5R,5'S)-Meso-Form
(achiral)



66b: (5S,5'S)-Enantiomer

Die aus den Umsetzungen von 15 im lichtangeregten Zustand mit verschiedenen Substraten resultierenden Produkte - Dimere und 5-Addukte- sind in Tab. 6 aufgeführt.

Die photochemischen Untersuchungen am Deazaflavinium-kation 15

Tab. 6: Relative Umsatzgeschwindigkeit von 15 ($1,1 \cdot 10^{-4}$) für 50 % Umsatz mit verschiedenen Substraten in H_2O bei pH= 4 unter Argon bei 25°C.

SUBSTRAT	V _{rel.}	PRODUKT
Oxalsäure	0,8	Dimer <u>66</u>
Phenylelessigsäure	1,0	5-Addukt <u>67b</u>
Hydratropasäure	3,9	5-Addukt <u>67c</u>
Phenoxyessigsäure	2,7	5-Addukt <u>67a</u>
Mandelsäure	9,0	Dimer <u>66</u>
O-Methyl-mandelsäure	7,1	Dimer <u>66</u>
N,N'-Dimethylglycin	5,4	Dimer <u>66</u>
EdTA	7,7	Dimer <u>66</u>
Cyclohexadien	2,6	Dimer <u>66</u>
Cycloheptatrien	2,3	5-Addukt <u>67d</u>

ergeben Übereinstimmungen mit den Dunkelreaktionen von 15 hinsichtlich der Präferenz für Reaktionen in der 5-Position und zu lichtangeregtem 3,10-Dimethyl-deazaflavin hinsichtlich der Umsetzungen mit verschiedenen Substraten zu Dimeren bzw. Substrat-addukten.

Aufgrund der Blockierung der Positionen N(1,3,10) durch Methylgruppen sind die Reaktionsprodukte von 15 allerdings reoxidationsstabiler, so sind sowohl 66 als auch 67a-d gegenüber Luftsauerstoff stabil, und lassen sich erst in saurer Lösung mit NaNO_2 in die Ausgangsverbindung 15 zurückführen.

7. Synthese und Eigenschaften von Pyrimido-chinolonen

Flavine 68 sind gegenüber kovalenter Hydratation inert und gewinnen erst in den Flavinium-salzen 37 ausreichende Elektrophilie, um unter Addition von H_2O die Pseudobase 37a auszubilden^{68,85,87,88}).

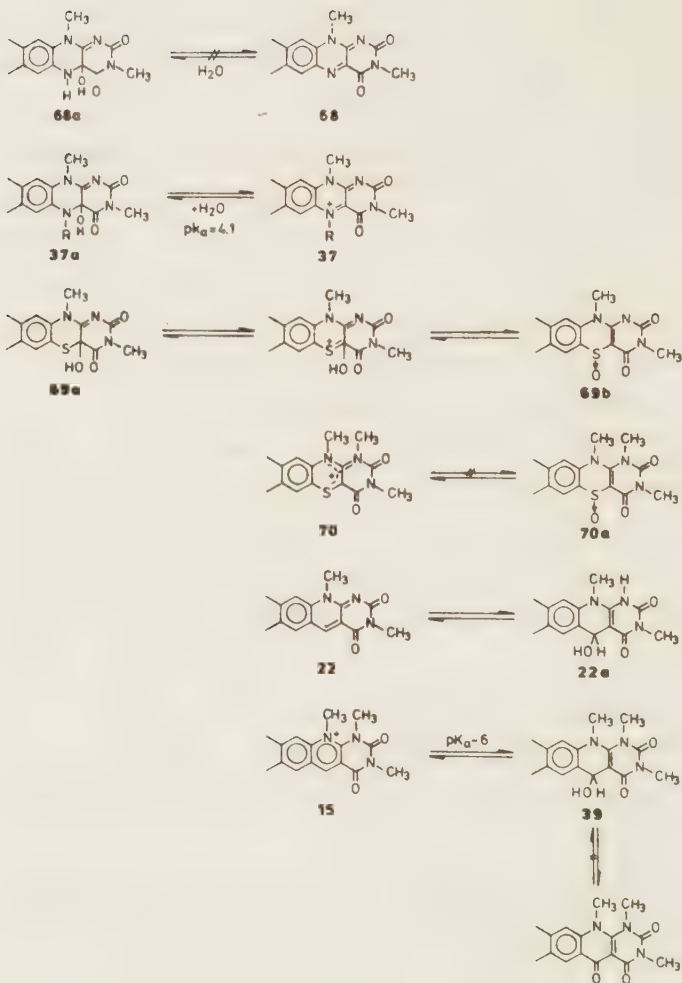
Durch Modifikation ändert sich die Acidobasizität des Systems, so sind bei N(5)-Austausch die formal zu 68 isoelektronischen Thiazonium-kationen 69 als oxidierte Stufe der 5-Thiaflavine in protischen Solventien nicht existent, sondern nur in Form ihrer 4a-Addukte 69a oder Sulfoxide 69b ^{89,90}).

Bei Deazaflavinen verhält sich 3 flavinähnlich³⁶), während das Deazaflavinium-kation 15 durch Blockierung in N(1) und N(10) additionsfähig wird und zu Pseudobasen vom Typ 39 reagiert (s.S. 57). Damit wird dieses System in seiner Reaktivität mit Pyridinium-, Chinolinium- und Acridinium-salzen vergleichbar^{70,71}).

Wie ferner gezeigt werden konnte, befindet sich 15 im Bereich von pH= 6 mit 39 im Gleichgewicht, welches bei pH-Werten kleiner 7 einer irreversiblen Dehydrierung zum Keton 40a unterliegt.

Um den Mechanismus der Redoxreaktion von 39 zu 40a genauer zu erfassen, wurde die Chemie der Pyrimido-chinolone näher untersucht.

Unter diesem Aspekt wurden in N(1,3,10) unterschiedlich substituierte Pyrimido-chinolone synthetisiert, ihr



Schema 9

spektrales Verhalten charakterisiert und die Reaktivität in der C(5)-Position untersucht.

7.1. Synthese von Pyrimido-chinolonen

Wie gezeigt werden konnte, läßt sich über das Deaza-flavinium-kation 15 die Pseudobase 39 und daraus unter Dehydrierung das Keton 40a gewinnen. Dieses Verfahren läßt sich jedoch nicht allgemein auf die Synthese von Pyrimido-chinolonen anwenden, da die Bildung der Pseudobase nur gelingt, wenn die Positionen 1,3 und 10 durch Alkyl-substituenten blockiert sind.

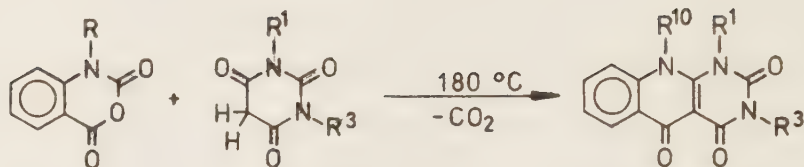
Für die Direktsynthese dieser 2,4,5-Trioxo-verbindungen waren die in der Deazaflavinchemie üblichen Verfahren ebenfalls nicht erfolgversprechend, da hier in der Regel Benzyliden-barbitursäuren als Vorstufe zur Cyclisierung dienen und keine Variante bekannt ist, bei der die Cyclisierung unter Erhalt einer vorgegebenen " 5-Oxo-Struktur " verläuft.

Für die Synthese der Pyrimido-chinolone erwies sich N-Methylisatosäureanhydrid 71a als geeignetes Startmaterial:

Im Ölbad bei 180°C bildet sich in einer Schmelze von 71a mit Dimethyl-barbitursäure 2b auf direktem Wege und in guten Ausbeuten das Pyrimido-chinolon 40a.

Durch Variation der Ausgangsverbindungen läßt sich diese Darstellungsmethode auch für die Synthese von in N(1,3,10)-Position unterschiedlich substituierten Pyrimido-chinolonen

verwenden.



71	R	2	R ¹	R ³	40	R ¹	R ³	R ¹⁰
a	CH ₃	a	H	H	a	CH ₃	CH ₃	CH ₃
b	H	b	CH ₃	CH ₃	b	H	CH ₃	CH ₃
		c	H	CH ₃	c	CH ₃	CH ₃	H
					d	H	H	CH ₃
					e	H	CH ₃	H
					f	H	H	H

7.2. Elektronenspektren der Pyrimido-chinolone 40a-c

Die Struktur der Pyrimido-chinolone 40a-f wurde mit Hilfe der ¹H-NMR-, IR- und Massenspektroskopie ermittelt. Die Interpretation ergab aufgrund der großen Ähnlichkeit mit Dihydro-deazaflavinen keine neuen Aspekte.

Die Charakterisierung der möglichen Tautomerenstrukturen in Abhängigkeit von der N(1)- bzw. N(10)-Substitution sowie die Acidobasizität dieser Systeme erfolgte elektronenspektroskopisch. NMR- spektroskopische Verfahren konnten bei der

Klärung der Tautomerenfrage wegen der geringen Löslichkeit der Verbindungen in den erforderlichen Solventien nicht zur Anwendung gelangen.

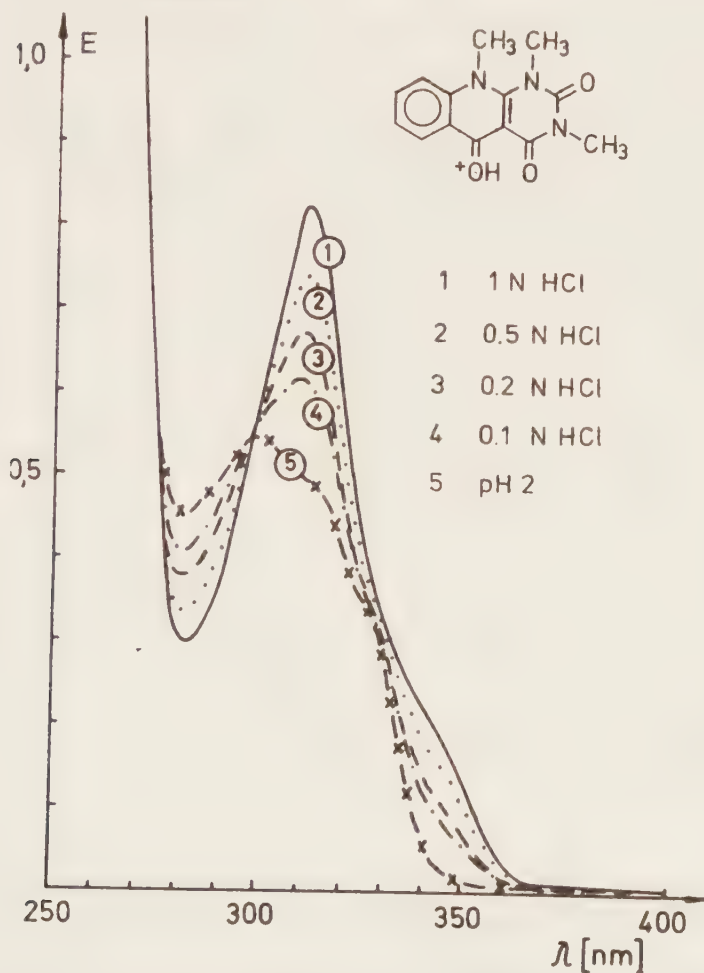


Abb. 28: UV/VIS von 40a

Infolge vollständiger Blockierung repräsentiert 40a den Chromophor der 5-Ketostruktur, was auch aus der Identität der Spektren in Puffer pH= 4 und Methanol hervorgeht. Wie N(10)-substituierte Acridanone läßt sich 40a mit einem pK. kleiner 0 protonieren (Abb. 28), was spektral an einer geringen bathochromen Verschiebung bei Zunahme der Extinktion kenntlich ist. Gegenüber wässrigem Alkali erweist sich 40a bis zu einem pH kleiner 11 als stabil, ab pH= 12 findet dagegen eine irreversible Reaktion statt. (Abb. 29) Darin zeigt sich die auch für dieses System gültige Alkaliempfindlichkeit von Deazaflavinen, die in einem anderen Zusammenhang ausführlich untersucht wurde.

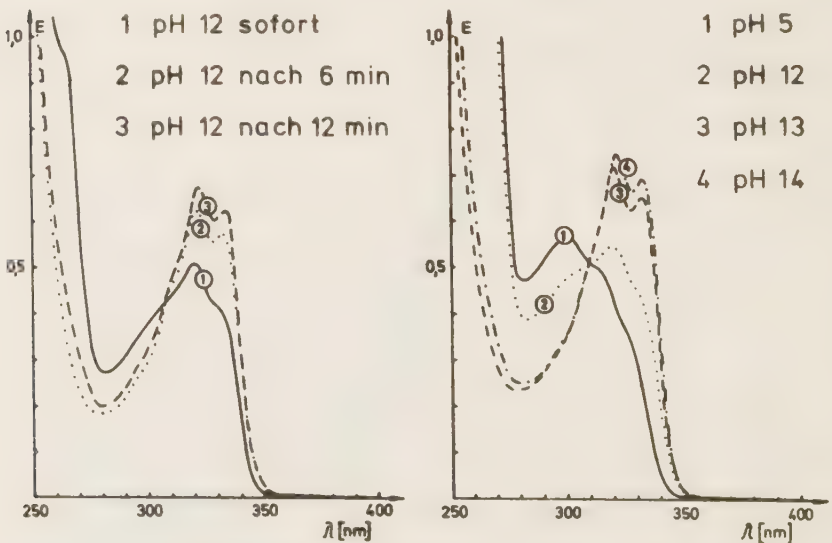


Abb. 29: UV/VIS der Alkaliempfindlichkeit von 40a

Für die Dimethyl-pyrimido-chinolone 4Ob,c ergibt sich aus den Elektronenspektren ein auffallender Unterschied zwischen dem formal mit Lumiflavinen verwandten 3,10-substituiertem Vertreter 4Ob und dem Lumichrom-analogen 1,3-Dimethyl-system 4Oc.

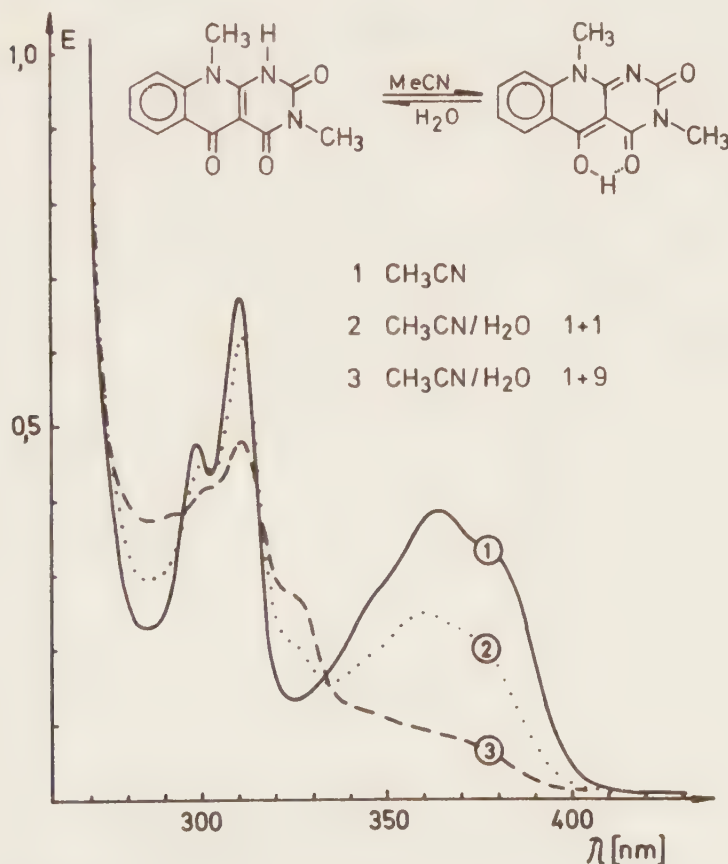


Abb. 30: UV/VIS des Tautomeren-Gleichgewichts von 4Ob

Der Ort der Alkylsubstitution - N(1) bzw. N(10) - wirkt sich auf die Solvensabhängige Lage der Tautomeren-Gleichgewichte sowie die Acidobasizität der Systeme aus.

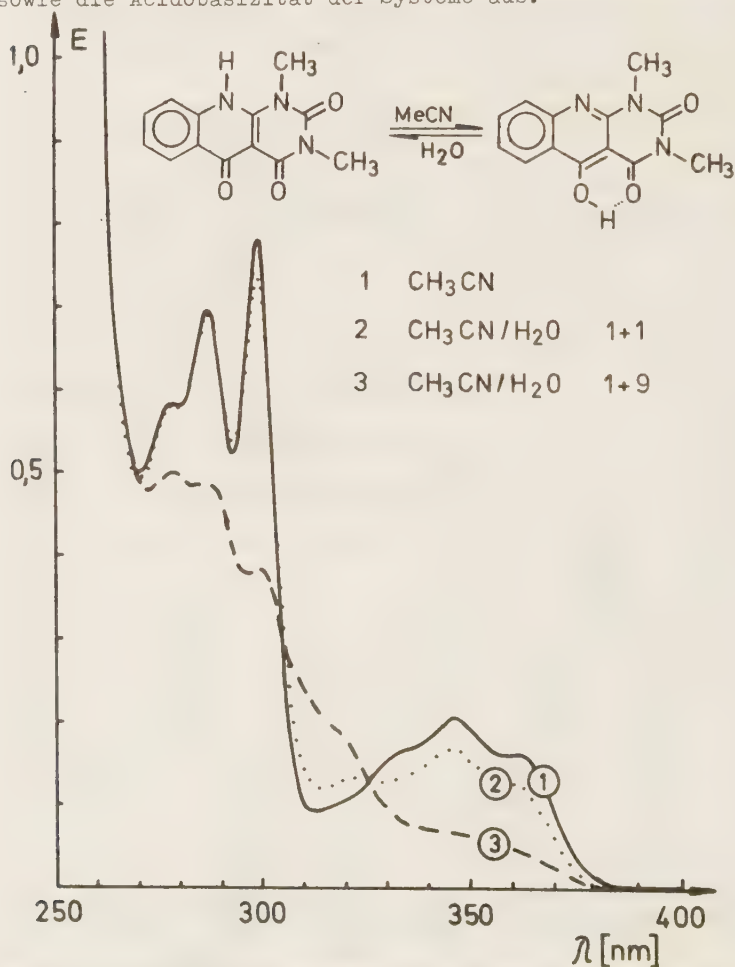


Abb. 31: UV/VIS des Tautomeren-Gleichgewichts von 4Oc

In Acetonitril liegen 40b und 40c hoch enolisiert vor, was durch eine Chelatisierung der 5-OH/4-CO Struktur begünstigt wird. (Abb. 30,31)

Bei langsamer Erhöhung des H_2O -Anteils im Solvens stabilisiert sich durch H-Brücken mit dem Lösungsmittel die Keton-Struktur. Die nun vorhandene Ähnlichkeit von 40b und 40c zeigt sich auch in der Lage der langwelligen Absorption bei 310 nm. Für beide Systeme typisch ist das im wässrigen Milieu beobachtete Verschwinden der Absorption im Bereich von 360 nm. Die unterschiedliche Acidobasizität der Ketone 40b,c wird durch ihre jeweiligen pK-Werte belegt.

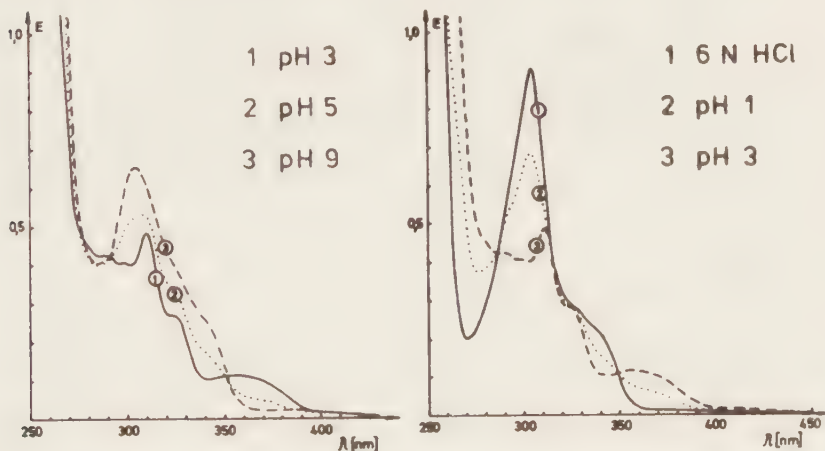


Abb. 32: UV/VIS des Deprotonierungs-pK(links) und des Protonierungs-pK(rechts) von 40b

In 40b findet N(1)-Deprotonierung mit einem pK von 5,5 statt,

während für die N(10)-Deprotonierung in 40c ein pK-Wert von 6,8 ermittelt wurde.

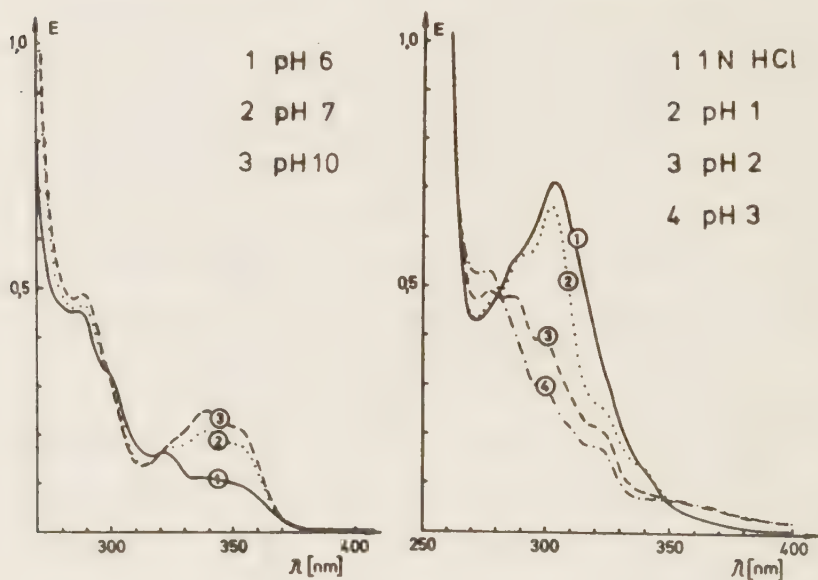


Abb. 33: UV/VIS der Deprotonierung (links) und Protonierung (rechts) von 40c

Für die Protonierung wurden pK-Werte ermittelt, die ähnliche, durch den Ort der Substitution bedingte, Unterschiede aufweisen: 40b = 0,3; 40c = 1,5.

7.3. Reduktionsreaktionen mit Pyrimido-chinolonen

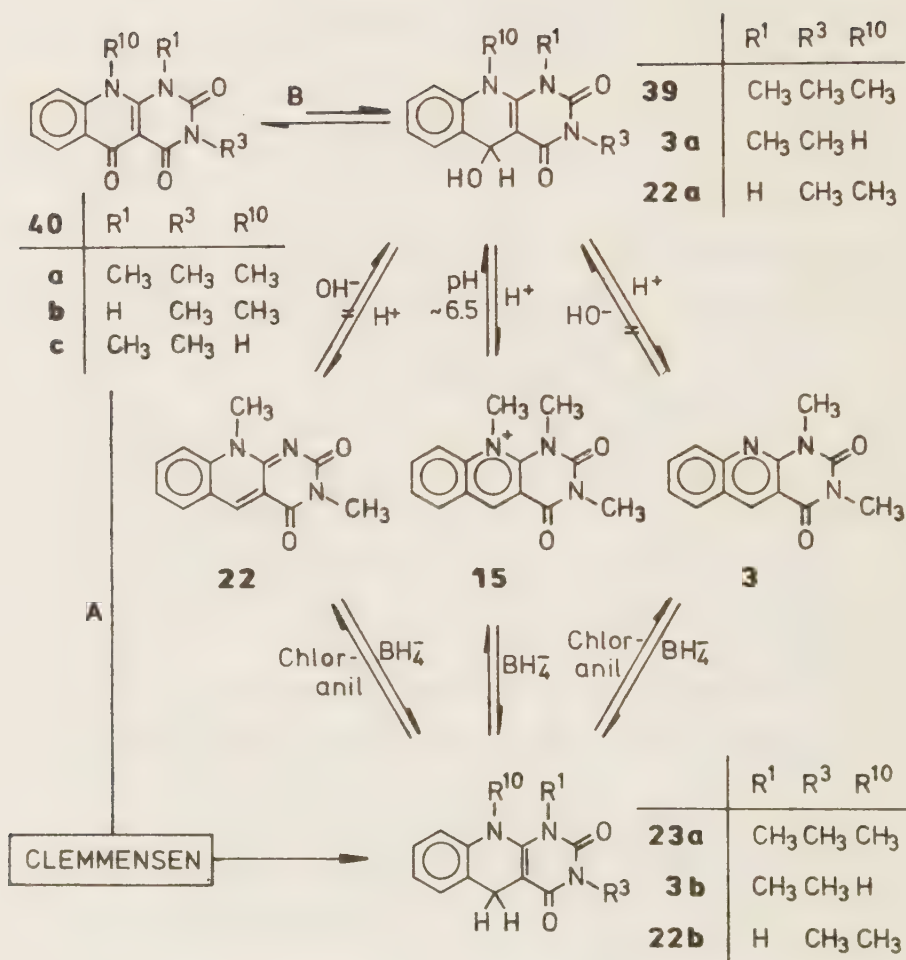
Die Reduktion der 5-Ketofunktion von unterschiedlich substituierten Vertretern der Pyrimido-chinolone 40a-f sollte in Abhängigkeit vom Reduktionsmittel zwei Wege in die Reihe der Dihydro-deazflavine ermöglichen:

Direkte Reduktion der 5-Ketogruppe zur CH_2 -Gruppe (Weg A) und Reduktion zu den Pseudobasen (Weg B), die nach Dehydratisierung zu dFl_{ox} zu den Dihydro-deazaflavinen zu reduzieren sein sollten. (Schema 10)

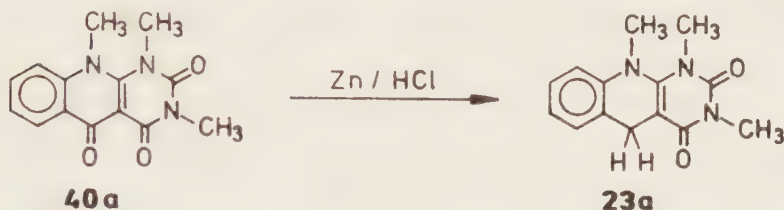
Weg A würde darüberhinaus über die Dihydro-deazaflavine 23a, 3b und 22b in die Reihe der Deazalumichrome 3, Deazalumiflavine 22 und Deaza-flavinium-salze 15 führen, Weg B die Möglichkeit eröffnen, die Pseudobasen 3a und 22a, die direkt aus 22 und 3 nicht zu gewinnen sind, spektral zu charakterisieren.

Zur Reduktion der Pyrimido-chinolone 40a-f entsprechend dem Weg A stehen grundsätzlich die Verfahren nach Wolff-Kishner und Clemmensen zur Verfügung. Bei Vorversuchen zeigte sich allerdings, daß die 5-Ketofunktion nicht in der Lage ist, mit Hydrazinderivaten Hydrazone zu bilden, so daß eine Wolff-Kishner-Reduktion auszuschließen war, was sich auch im präparativem Versuch bestätigte.

Die Reduktion unter Clemmensen-Bedingungen war aufgrund der schlechten Löslichkeit der Verbindungen erst bei Anwendung einer Variante nach E.L. Martin⁹¹⁾ erfolgreich und



ergab im Falle 40a die gewünschte Reduktion zu 23a, was durch spektralen Vergleich mit authentischem Material bewiesen werden konnte.



Im Falle 40b-f gelang auch diese Reduktion nicht. Offensichtlich ist für diese Reduktion eine vollständige Blockierung des Systems durch Alkylgruppen Voraussetzung.

Alle Versuche, durch Einsatz komplexer Hydride (NaBH_4 , LiBH_4 , DIBALH ,) entsprechend dem Weg B eine Reduktion der Ketofunktion durchzuführen, blieben ohne Erfolg.

7.4. Reaktionen mit CH-aciden Verbindungen

Die aus dem spektralen Verhalten ersichtliche Tautomerie der Pyrimido-chinolone 40b-f und die sich daraus ergebende geringe Reaktivität der Systeme zeigte sich auch bei Umsetzungen mit CH-aciden Verbindungen.

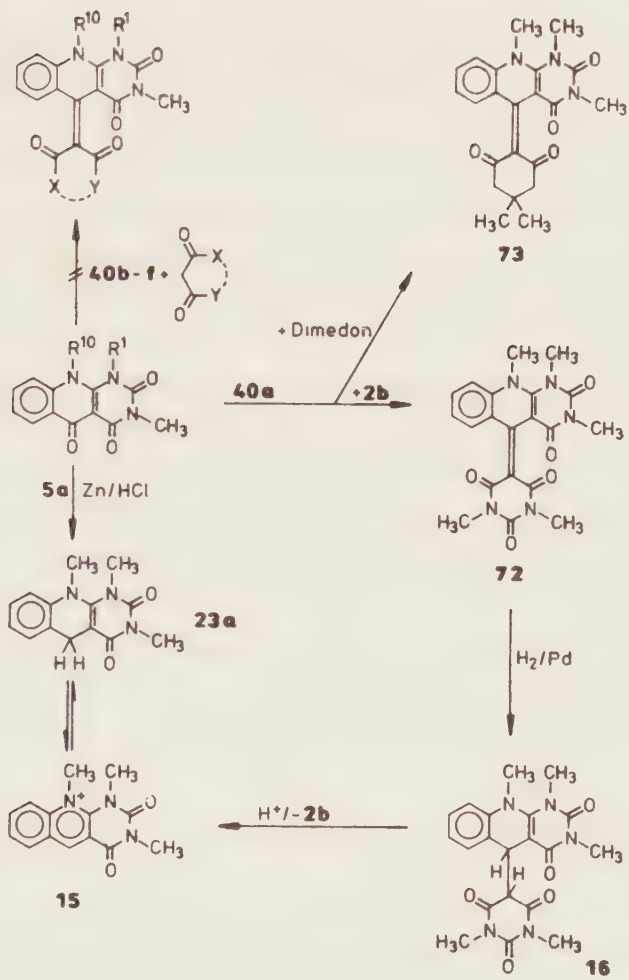
Weder im Küvettenversuch noch im präparativem Maßstab lassen sich 40a-f unter Knoevenagel-Bedingungen mit CH-aciden Komponenten umsetzen, dagegen gelang es analog der von Eiden und Fenner⁹²⁾ bei der Reaktion von Chinolonen mit Barbitursäuren

in Gegenwart von $\text{HAc}/\text{Ac}_2\text{O}$ beobachteten Bildung von Chinolin-yliden-derivaten im Falle von 40a in guten Ausbeuten mit Dimedon und Dimethyl-barbitursäure zu den Yliden-verbindungen 73,72 zu gelangen.

Unter den gleichen Bedingungen reagieren die Pyrimido-chinolone 40b-f nicht.

Aus 72 läßt sich durch katalytische Hydrierung 16 gewinnen, dessen Bedeutung für die Synthese des Deazaflavinium-kations ausführlich beschrieben wurde(s.S.17).

Die wenig ausgeprägte Carbonyllaktivität der 5-Position, die sich bei Reduktionsversuchen zeigte und als deren Ursache die elektronenspektroskopisch belegte Tautomerie der Pyrimido-chinolone anzusehen ist, bestätigte sich auch bei Versuchen, durch Kondensation mit CH-aciden Verbindungen zu Chinolin-yliden-derivaten zu gelangen (vgl. Schema 11).



Schema 11

8. Zusammenfassung

Durch Kondensation von N-Methyl-anthranilaldehyd mit Dimethylbarbitursäure zum Bisbarbituryl-derivat 16 und dessen saure Spaltung erhält man das 1,3,10-Trimethyl-deazaflavinium-kation 15.

Durch UV/VIS-, IR- und NMR-spektroskopische Untersuchungen wird das Kation 15 mit Flavinen und Deazaflavinen verglichen. Hierbei ergeben sich Übereinstimmungen mit Flavinium-salzen und Deaza-lumichromen.

Im Gegensatz zu Flavinium-kationen, die unter Umlagerung reagieren, setzt sich 15 mit verschiedenen nucleophilen Reaktionspartnern zu 5-Addukten unterschiedlicher Stabilität um:

- mit BH_4^- erfolgt Reduktion zum Dihydro-deazaflavin 23a, das auch durch katalytische Hydrierung von 15 erhalten werden kann,
- während mit Dithionit ebenfalls das Dihydro-system 23a entsteht, bildet sich mit Sulfit das 5-Sulfonat 32,
- mit einem pK größer 6 entsteht aus 15 die Pseudobase 39, die in einem pH-Bereich oberhalb 7 einer irreversiblen Dehydrierung zum Keton 40a unterliegt,
- in alkalischem Milieu (ab $\text{pH} = 9$) konkurriert mit dem elektrophilen Zentrum C(5) die Position 10a, deren Hydratation zur irreversiblen Ringspaltung unter Bildung der auch direkt zugänglichen Benzyliden-barbitursäure 18 führt,
- mit Alkoholat entstehen dagegen ausschließlich 5-Solvate

die ebenfalls, wenn auch in langsamerer Reaktion, bei der Umsetzung von Alkoholen mit 15 in Anwesenheit selbst nicht additionsfähiger Amine gebildet werden,

- primäre und sekundäre Amine reagieren dagegen zu Additionsverbindungen die unter Ausschluß von H_2O stabil sind,
- als additionsfähige CH-acide Komponenten erweisen sich Nitromethan und verschiedene Ketone,
- mit Cyanid entsteht das 5-Cyano-deazaflavin 58.

In orientierenden Studien zur photochemischen Reaktivität von 15 im Vergleich zum Deazaflavin konnte die Bildung von Photoaddukten nachgewiesen werden.

Das aus verschiedenen Addukten durch Dehydrierung gebildete 5-Keto-deazaflavin 40a wurde zusätzlich durch eine Direktsynthese erhalten, die auch zur Darstellung der N(1)- bzw. N(10)-H Pyrimido-chinolone 40b und 40c geeignet ist. Ihr spektrales Verhalten und ihre Reaktivität wurde untersucht.

Wie durch eine Vielzahl von Beispielen zu belegen ist, unterscheidet sich das Deazaflavinium-kation 15 in wichtigen Reaktionen von denen entsprechender Flavinium-salze, sie sind vielmehr ein weiterer Beweis für die Strukturverwandtschaft zwischen Deazaflavinen und NAD.

9. Experimenteller Teil

9.1. Allgemeine Angaben

Dünnschichtchromatographie

Für die dünnschichtchromatographischen Untersuchungen wurden DC-Fertigplatten Kieselgel F-254 der Firma Merck verwendet. Laufstrecke: 15 bzw. 8 cm, Fließmittel: A) Benzol, Diisopropyläther, Äthanol (9:8:1); B) Chloroform, Äthanol (8:2).

Elektronenspektren

Die Aufnahme der Elektronenspektren erfolgte in einem Varian 635 M Spektralphotometer, als Meßzellen dienten Quarzküvetten QS der Firma Hellma.

Elementaranalysen

Die Elementaranalysen wurden auf einem automatischen C-H-N-Analyser der Fa. Perkin-Elmer im Analysenlabor des pharmazeutischen Institutes der FU Berlin durchgeführt.

^1H -NMR-Spektren

Die ^1H -NMR-Spektren wurden mit den Varian-Geräten A-60A, T-6C und XL-100 aufgenommen, Tetramethylsilan als innerer Standard verwendet.

IR-Spektren

Die IR-Spektren wurden im Perkin-Elmer-Spektralphotometer Modell 237 und 421 als KBr-Preßlinge gemessen. Die Lage der Banden wird in Wellenzahlen (cm^{-1}) angegeben.

Massenspektren

Die Ermittlung der Molekülmassen erfolgte massenspektrometrisch

mit einem CH 7 Varian MAT bei einer Ionisationsspannung von 70 eV.

Schmelzpunkte

Die Schmelzpunkte wurden mit einem Linström-Block ermittelt und sind nicht korrigiert.

9.2. 5-(5'-1,3-Dimethyl-barbituryl)-1,3,10-trimethyl-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-pyrimido- [4,5-b] dihydro-chinolin (16)

a. 0,05 Mol (6,75g) N-Methyl-anthranilaldehyd werden mit 0,1 Mol (15,6) 1,3-Dimethyl-barbitursäure in 1000 ml Methanol 2 Std. rückfließend erhitzt. Das nach Kühlung ausfallende Produkt wird abgesaugt und mit je 500 ml kaltem H₂O und kaltem Methanol gewaschen. Die Verbindung wird aus wenig Methanol umkristallisiert.

Ausbeute: 68 % d. Th.

b. 0,05 Mol (0,8g) 72 werden in 200 ml Dioxan unter Zusatz von 10 % Palladium/Kohle als Katalysator unter Normaldruck bei 50°C bis zur beendigten Wasserstoffaufnahme hydriert. Der Katalysator wird abfiltriert, das Filtrat bis zur Trockne eingedampft und der Rückstand aus CH₃OH umkristallisiert.

Ausbeute: 76 % d. Th.

Schmp.: 228°C (Zersetzung)

C₂₀H₂₁N₅O₅ (411,4)

Mol.-Masse: 411 (massenspektr.)

Ber.: C: 58,39 H: 5,15 N: 17,02

Gef.: C: 58,25 H: 5,18 N: 17,09

^1H - NMR (CDCl_3) δ ppm: 3,05 (s, 3H, N- CH_3); 3,2 (s, 3H, N- CH_3); 3,3 (s, 6H, N- CH_3); 3,4 (s, 6H, N- CH_3); 3,9 (d, 1H, C(5')-H, mit D_2O austauschbar); 5,1 (d, 1H, C(5)-H, nicht austauschbar, nach C(5')-H-Austausch: s); 6,9-7,3 (m, 4H, arom.)

9.3. 1,3,10- Trimethyl- 2,4- dioxo- 1,2,3,4- tetrahydro- pyrimido- [4,5- b] - chinolinium- perchlorat (15)

0,01 Mol (4,1g) 16 werden in 1000 ml Methanol unter Erwärmen gelöst. Die Lösung wird auf 50°C abgekühlt und tropfenweise mit 5ml 70 % HClO_4 versetzt. Nach beendigter Perchlorsäurezugabe und Kühlung erhält man gelblich- weiße Kristalle. Ausbeute: 93 % d. Th.

Schmp.: oberhalb 330°C (Zersetzung)

$\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}_2 \quad \text{ClO}_4$ (355,7)

Mol.- Masse: 241 (massensp. $\text{M}^+ -15 =$ ' Norbase')

Ber.: C: 47,27 H: 3,97 N: 11,81 Cl: 9,97

Gef.: C: 47,10 H: 3,85 N: 11,87 Cl: 10,12

^1H - NMR (TFE) δ ppm: 3,65 (s, 3H, N(3)- CH_3); 4,0 (s, 3H, N(1)- CH_3); 4,55 (s, 3H, N(10)- CH_3); 7,95- 8,6 (m, 4H, arom.); 9,75 (s, 1H, C(5)- H).

IR. (KBr): $1085 \text{ cm}^{-1}(\text{ClO}_4)$; $1673 \text{ cm}^{-1}(2-\text{C}=\text{O})$; $1723 \text{ cm}^{-1}(4-\text{C}=\text{O})$.

UV/VIS (TFE): $\lambda_{\text{max}} = 342\text{nm}$ (4.358)

$\lambda_{\text{max}} = 258\text{nm}$ (4.717)

9.4. 1,3- Dimethyl- 5- (2- methylamino- benzyliden) barbi-
tursäure (18)

0,05 Mol (6,75g) N- Methyl- anthranilaldehyd werden mit
0,05 Mol (7,8g) 1,3- Dimethyl- barbitursäure in 500 ml 10 %
methanolischer Kalilauge 5 Std. rückfließend erhitzt. Die Lö-
sung wird über Nacht in den Kühlschrank gestellt, das ausge-
fallene Produkt abgesaugt und mit 100 ml kaltem Methanol ge-
waschen.

Ausbeute: 84 % d. Th.

Schmp.: 187°C

$C_{14}H_{15}N_3O_3$ (273,3)

Mol.- Masse: 273 (massensp.)

Ber.: C: 61,52 H: 5,53 N: 15,38

Gef.: C: 61,57 H: 5,48 N: 15,45

1H - NMR ($CDCl_3$) δ ppm: 2,95 (d, 3H, N(Ar.)- CH_3); 3,25 (s, 3H,
N- CH_3); 3,75 (s, 3H, N- CH_3); 7,25- 7,8 (m, 4H, arom.); (s, breit,
1H, N(Ar.)- H, mit D_2O austauschbar, dann s für N(Ar.)- CH_3).

UV/VIS (CH_3CN) : λ_{max} = 338 nm (4.185)

λ_{max} = 283 nm (4.362)

λ_{max} = 275 nm, sh, (4.358)

9.5. 1,3,10- Trimethyl- 2,4- dioxo- 1,2,3,4- tetrahydro- py-
rimido- [4,5- b] - dihydrochinolin (23a)

a. 0,02 Mol (5,46g) 18 werden in 250 ml Dimethylformamid ge-
löst und unter Zusatz von 1,0g Katalysator (10 % Palladium/
Kohle) unter Normaldruck bei 55°C hydriert. Nach beendigter

Wasserstoffaufnahme wird der Katalysator abfiltriert, das Filtrat im Vakuum eingeeengt und das Reaktionsprodukt 3 Std. in Methanol rückfließend erhitzt und anschließend durch Kühlung zur Kristallisation gebracht.

Ausbeute: 54% d. Th.

b. 0,02 Mol (7,1g) 15 werden wie oben angegeben hydriert. Das Reaktionsprodukt wird einmal aus Methanol umkristallisiert.

Ausbeute: 33 % d. Th.

c. 0,02 Mol (7,1g) 15 werden in 300 ml Methanol gelöst und portionsweise mit 1,0g NaBH_4 versetzt. Die Lösung wird 1 Std. bei Zimmertemperatur gerührt, nach Verdünnung mit H_2O fällt 23a aus.

Ausbeute: 96 % d. Th.

d. 0,02 Mol (7,1g) 15 werden in 100 ml Methanol suspendiert und im Überschuß mit wässriger $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ -Lösung versetzt. Die Lösung wird 3 Std. bei 50°C gerührt. Nach Abkühlen wird mit Wasser verdünnt und das ausgefallene Reduktionsprodukt abgesaugt.

Ausbeute: 76 % d. Th.

e. Eine Suspension von 0,1 Mol (27,1g) 40a in 300 ml Aethanol wird über einen Zeitraum von 5 Std. portionsweise zu einer rückfließend erhitzten Mischung von amalgmiertem Zink (100g Zinkpulver und 5g Quecksilberchlorid), 75 ml H_2O , 40 ml Aethanol und 175 ml konz. HCl hinzugegeben. Nach beendigter Zugabe wird weiter 24 Std. rückfließend erhitzt, während dieser

Zeit werden 200 ml konz. HCl in kleinen Teilen zugefügt. Der Rückstand wird nach Kühlung abdekantiert, die Lösung mit Wasser verdünnt und mit Chloroform extrahiert. Die Chloroformphase wird getrocknet, eingedampft und das Rohprodukt aus Methanol umkristallisiert.

Ausbeute: 20 % d. Th.

Schmp.: 146°C

$C_{14}H_{15}N_3O_2$ (257,3)

Mol.- Masse: 257 (massenspektr.)

Ber.: C: 65,35 H: 5,88 N: 16,33

Gef.: C: 65,35 H: 5,79 N: 16,39

1H - NMR ($CDCl_3$) δ ppm: 3,3 (s, 6H, N-CH₃); 3,5 (s, 3H, N-CH₃); 3,75 (s, 2H, C(5)-H₂); 6,95- 7,3 (m, 4H, arom.).

IR. (KBr): 1630 cm^{-1} (2-C=O); 1680 cm^{-1} (4-C=O).

UV/VIS (CH_3OH): λ_{max} = 314nm (4.061)

λ_{max} = 248nm (4.077)

9.5.1. 1,3,10- Trimethyl- 2,4- dioxo- 1,2,3,4- tetrahydro-
pyrimido- [4,5- b] - 5- sulfonyl- dihydro- chinolin 32

0,001 Mol (0,25g) 15 werden in einem Puffer (pH= 8) suspendiert und mit einem Überschuß wässriger $NaHSO_3$ - Lösung versetzt. 32 läßt sich nicht in kristalliner Form erhalten. In Lösung ist die Verbindung stabil, durch Säurezugabe kann die Ausgangsverbindung 15 quantitativ zurückerhalten werden. Zur 1H - NMR- spektroskopischen Untersuchung wird 15 in D_2O gelöst, mit $NaHSO_3$ veretzt und sofort gemessen.

$C_{14}H_{15}N_3O_5S$ (337,4)

^1H - NMR (D_2O) δ ppm: 3,35 (s,3H,N- CH_3); 3,4 (s,3H,N- CH_3); 3,45 (s,3H,N- CH_3); 5,2 (s,1H,C(5)- H); 7,1- 7,45 (m,4H, arom.).

UV/VIS (D_2O) : λ_{max} = 304 nm (4.071)

λ_{max} = 232 nm (4.196)

9.6. 5- Hydroxy- 1,3,10- trimethyl- 2,4- dioxo- 1,2,3,4- tetrahydro- pyrimido- [4,5- b] - dihydro- chinolin (39)

In einem Puffer (pH= 9) bildet sich aus 15 quantitativ 39. Da es nicht gelingt, 39 in reiner Form auszukristallisieren, wird zur ^1H - NMR- spektroskopischen Untersuchung 15 in NaOD gelöst und sofort gemessen.

Läßt man eine Lösung von 0,001 Mol (0,25g) 15 bei pH= 9 über Nacht an der Luft stehen, so kann quantitativ 40a isoliert werden. Behandelt man 15 mit 0,1 N NaOH, erhält man nach 3 Std. 18 .

$\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_3$ (273,3)

^1H - NMR (NaOD) δ ppm: 3,3 (s,6H,N- CH_3); 3,4 (s,3H,N- CH_3); 3,8 (s,1H,C(5)- H); 7,05- 7,45 (m,4H,arom.).

UV/VIS: Abb. 10 (S.34)

9.6.1. 5- Methoxy- 1,3,10- trimethyl- 2,4- dioxo- 1,2,3,4- tetrahydro- pyrimido- [4,5- b] - dihydro- chinolin(47a)

0,001 Mol (0,25g) 15 werden in 50 ml absolutem Methanol suspendiert, mit einem Überschuß Na- methylat versetzt und 1 Std. unter Argonatmosphäre bei Zimmertemperatur gerührt. Nach Kühlung kristallisiert 47a aus.

Wird beim Aufarbeiten mit H_2O gearbeitet, bildet sich 40a.

Ausbeute: 86 % d. Th.

Schmp.: $148^{\circ}C$

$C_{15}H_{17}N_3O_3$ (287,3)

Mol.- Masse: 287 (massenspektr.)

Ber.: C: 62,71 H: 5,96 N: 14,63

Gef.: C: 62,75 H: 5,91 N: 14,61

1H - NMR: Abb.18 (S.66)

UV/VIS: Abb.17 (S.65)

9.6.2. 5- Aethoxy- 1,3,10- trimethyl- 2,4- dioxo- 1,2,3,4-
tetrahydro- pyrimido- [4,5- b] - dihydro- chinolin (47b)

0,001 Mol (0,25g) 15 werden in 50 ml absolutem Aethanol suspendiert, mit einem Überschuß Na- aethylat versetzt und eine Stunde bei Zimmertemperatur unter Argonatmosphäre gerührt. Auch hier muß absolut wasserfrei gearbeitet werden, um Bildung von 40a auszuschließen.

Ausbeute: 88 % d. Th.

Schmp.: $136^{\circ}C$

$C_{16}H_{19}N_3O_3$ (301,3)

Mol.- Masse: 301 (massenspektr.)

Ber.: C: 63,78 H: 6,36 N: 13,95

Gef.: C: 63,82 H: 6,28 N: 13,98

UV/VIS: Abb.17 (S.65)

9.7. Allgemeine Darstellungsmethode der 5- Aminaddukte von 15
49a-e (49a: 5- Methylamino-, 49b: 5- Dimethylamino-, 49c: 5-
Diaethylamino-, 49d: 5- Benzylamino-, 49e: 5- Morpholino- 1,3,
10- trimethyl- 2,4- dioxo- 1,2,3,4- tetrahydro- pyrimido-
4,5- b - dihydro- chinolin.)

Eine Suspension von 0,001 Mol (0,25g) 15 in 30 ml absolutem Methanol wird mit einfachem Überschuß reinem, wasserfreiem Amin versetzt, unter Lösung bildet sich quantitativ 49a-e. Die Aminaddukte sind in Lösung beständig und lassen sich durch Protonenzugabe in die Ausgangsverbindung 15 zurückführen.

Versetzt man die Lösungen von 49a-e mit H_2O , so bildet sich 40a.

Wird mit einem 4-5- fachen Überschuß an Amin gearbeitet und mit Wasser 1:1 verdünnt bildet sich 18 neben Spuren von 40a.
(DC: Fließmittel A)

9.7.1.

Die Verbindungen 49a-e sind in kristalliner Form nicht rein zu erhalten. Zur UV/VIS- und 1H - NMR- spektroskopischen Untersuchung werden daher die Lösungen verwendet.

Zur 1H - NMR- Spektroskopie wird im Falle 49a,b gasförmiges Amin über Trockentürme in eine Lösung von 0,03g 15 in $CDCl_3$ geleitet und sofort gemessen. Im Falle 49c-e wird Amin höchsten Reinheitsgrades zu einer Lösung von 15 in $CDCl_3$ gegeben. Die spektralen Daten von 49a-e sind in Tabelle 7 zusammengefaßt.

<u>49a-e</u>	<u>49a</u>	<u>49b</u>	<u>49c</u>	<u>49d</u>	<u>49e</u>
Summenformel:	C ₁₅ H ₁₈ N ₄ O ₂ (286,3)	C ₁₅ H ₁₉ N ₄ O ₂ (299,4)	C ₁₈ H ₂₄ N ₄ O ₂ (328,4)	C ₂₁ H ₂₂ N ₄ O ₂ (362,4)	C ₁₈ H ₂₂ N ₄ O ₂ (342,4)
UV/VIS					
λ_{max} CH ₃ OH	292/232	290/232	290/232	290/232	290/232
CH ₃ CN	292/232	293/235	293/235	293/235	292/232
CHCl ₃	292/232	291/232	291/232	290/232	292/232
¹ H-NMR (CDCl ₃)					
C(5)-H δ	5,0 ppm	5,05 ppm	5,05 ppm	5,15 ppm	5,1 ppm
Protonen- zugabe (H ⁺)	reversibel	reversibel	reversibel	reversibel	reversibel

Tab. 7

9.8. 5-C-C-Addukte von 15

9.8.1. 5-Nitromethyl-1,3,10-trimethyl-2,4-dioxo-1,2,3,4-

tetrahydro-pyrimido-[4,5-b]-dihydro-chinolin (51)

0,001 Mol (0,25g) 15 in 50 ml absolutem Methanol werden mit äquimolaren Mengen einer Nitromethylat-Lösung versetzt und 2 Std. gerührt. Nach 24-stündigem Stehenlassen im Eisschrank kristallisiert 51 in weißen Nadeln aus. Die Kristalle färben sich an der Luft leicht gelblich.

Ausbeute: 86 % d. Th.

Schmp.: 162°C.

C₁₅H₁₆N₄O₄ (316,2)

Mol.-Masse: 316 (massenspekt.)

Ber.: C: 56,98 H: 5,10 N: 17,71

Gef.: C: 56,97 H: 5,14 N: 17,73

¹H-NMR (CDCl₃) δppm: 3,3 (s, 3H, N-CH₃); 3,4 (s, 3H, N-CH₃); 3,5 (s, 3H, N-CH₃); 4,7 (t, 1H, C(5)-H); 4,75 (AB-System, J = 14 Hz, 2H, C(5)-H₂); 7,0-7,35 (m, 4H, arom.)

9.8.2.1. 5-Phenacyl-1,3,10-trimethyl-2,4-dioxo-1,2,3,4-

tetrahydro-pyrimido-[4,5-b]-dihydro-chinolin(56a)

0,001 Mol (0,25g) 15 und 0,001 Mol (0,12g) Acetophenon werden in 50 ml Puffer (pH = 8) 3 Std. bei Zimmertemperatur gerührt und anschließend über Nacht in den Kühlschrank gestellt. 56a kristallisiert in langen, weißen Nadeln aus, die sich

beim Stehen an der Luft leicht gelb färben.

Ausbeute: 61 % d. Th.

Schmp.: 176°C

$C_{22}H_{21}N_3O_3$ (375,4)

Mol.-Masse: 375 (massenspektr.)

Ber.: C: 70,39 H: 5,64 N: 11,19

Gef.: C: 70,27 H: 5,63 N: 11,16

1H -NMR ($CDCl_3$) δ ppm: 3,35 (AB-System, $J = 14$ Hz, 2H, C(5)- H_2);

3,35 (s, 3H, N- CH_3); 3,4 (s, 3H, N- CH_3); 3,45 (s, 3H, N- CH_3);

4,7 (t, 1H, C(5)-H); 7,0-8,0 (m, 9H, arom.)

9.8.2.2. 5-(1,2-Diphenyl-2-Äthanonyl)-1,3,10-trimethyl-2,4-

dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-pyrimido-[4,5b]-dihydro-chinolin (56b)

0,001 Mol (0,25g) 15 werden mit äquimolaren Mengen Desoxybenzoin wie oben angegeben behandelt. 56b kristallisiert in weißen Nadeln und oxidiert leicht an der Luft.

Ausbeute: 69 % d. Th.

Schmp.: 168°C

$C_{28}H_{25}N_3O_3$ (451,5)

Mol.-Masse: 451 (massenspektr.)

Ber.: C: 74,48 H: 5,58 N: 9,30

Gef.: C: 74,21 H: 5,54 N: 9,37

9.8.3. 5-Cyano-1,3,10-trimethyl-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetra-

hydro-pyrimido-[4,5-b]-dihydro-chinolin (58)

0,002 Mol (0,52g) 15 werden in 50 ml Methanol suspendiert und mit 500 mg KCN versetzt. Nach ca. 1 Std. rühren bei Zimmertemperatur tritt Lösung ein, man verdünnt mit Wasser und stellt über Nacht in den Kühlschrank. 58 fällt in weißen Plättchen aus, die sich an der Luft leicht rötlich färben.

Beim Erwärmen einer Lösung von 58 in DMF, DMSO und überschüssigen CN^- -Ionen färbt sich die Lösung rötlich. Nach ca. 2 Std. kann 40a isoliert werden.

Ausbeute: 76 % d. Th.

Schmp.: 132°C

$\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2$ (282,3)

Mol.-Masse: 282 (massenspektr.)

Ber.: C: 63,81 H: 4,99 N: 19,84

Gef.: C: 63,72 H: 4,91 N: 19,97

^1H -NMR (DMSO_{d_6}) δ_{ppm} : 3,2 (s, 3H, N- CH_3); 3,4 (s, 3H, N- CH_3); 3,5 (s, 3H, N- CH_3); 5,4 (s, 1H, C(5)-H); 7,1-7,6 (m, 4H, arom.)

9.8.4. 5-(4-Dimethyl-aminophenyl)-1,3,10-trimethyl-2,4-

dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-pyrimido-[4,5-b]-dihydro-chinolin (62)

0,005 Mol (1,3g) 15 und 0,005 Mol (0,6g) N,N-Dimethylanilin werden in einer Mischung von 150 ml Aethanol und 5 ml 0,1N NaOH 5 Std. rückfließend erhitzt. Die blauviolette Lösung wird nach dem Erkalten mit 500 ml Petroläther versetzt, 62 fällt aus.

Ausbeute: 71 % d. Th.

Schmp.: 228°C (Zersetzung)

$C_{22}H_{24}N_4O_2$ (376,4)

Mol.-Masse: 376 (massenspekt.)

Ber.: C: 70,20 H: 6,42 N: 14,88

Gef.: C: 71,08 H: 6,48 N: 14,76

1H -NMR (CD_3CN) δ ppm: 3,05 (s, 3H, N- CH_3); 3,1 (s, 3H, N- CH_3);
3,25 (s, 3H, N- CH_3); 3,5 (s, 6H, N- CH_3); 5,25 (s, 1H, C(5)-H);
6,9-7,45 (m, 8H, arom.)

9.9. Photoreaktionen

9.9.1. Allgemeine Angaben

Analytische Photoreaktion: Als Lichtquelle für die kinetischen Untersuchungen wurde ein Kleinbilddiaprojektor Perkeo S 250 der Fa. Zeiss verwendet, der mit einer 250 W/24 V Wolfram-Halogen-Niedervoltlampe und einem asphärischen Kondensorsystem mit Wärmefilter, das von ca. 320-380 nm lichtdurchlässig ist, ausgerüstet ist.

Der Spektralbereich des Lichtes wurde durch einen Breitbandinterferenzfilter K_1 der Fa. Balzers begrenzt.

Die Fehlergrenze dieser Messungen liegt bei ca. $\pm$ 10 %, da bei den Messungen kein Spannungsstabilisator zur Verfügung stand.

Präparative Photoreaktionen: Lichtquelle: 125 W Quecksilberhochdrucklampe der Fa. Philips als Tauchbrenner in wasserge-

Kühltem Mantel aus Pyrex Glas. Apperatur: Zylindrisches Reaktionsgefäß (70 mm Innendurchmesser und 600 ml Reaktionslösung) mit Gaseinleitungsrohr, Blasenprüfer und Magnetrührer. Die Ansätze werden durch 30-minütiges Einleiten von Argon anaerobisiert, und die Reaktion durch Abnahme der Absorption bei 350 nm kontrolliert. Die Reaktionstemperatur entspricht der Kühlwassertemperatur (ca. 15°C).

9.9.2. Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung der

Photoaddukte

0,002 Mol (0,53g) 15 werden in 400 ml einer wässrigen Lösung suspendiert, die 0,05 Mol des entsprechenden Substrats enthält. Die Lösung wird mit verdünnter HCl auf pH= 4,5 eingestellt und anschließend mit einem kontinuierlichen Strom von Argon anaerobisiert. Die photochemische Reduktion von 15 wird an Hand des Absinkens der 343 nm Absorption verfolgt. Wenn diese auf " Null " abgesunken ist, wird die Reaktion abgebrochen. Das ausgefallene Photoprodukt wird mit Methanol und Äther vorsichtig gewaschen und im Ölpumpenvakuum über P₂O₅ getrocknet.

9.9.2.1. 5,5'-Bis-(1,3,10-trimethyl-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-pyrimido-[4,5-b]-dihydro-chinolin) (66)

0,002 Mol (0,53g) 15 werden nach der oben angegebenen Vorschrift in wässriger Lösung mit 0,05 Mol (4,5g) Oxalsäure

photochemisch umgesetzt. Nach einer Bestrahlungsdauer von 3 Std. ist die Reaktion beendet.

Das ausgefallene Produkt wird abgesaugt, gewaschen und getrocknet.

Ausbeute: 88 % d. Th.

Schmp.: 308-310°C

$C_{28}H_{28}N_6O_4$ (512,6)

Mol.-Masse: 512 (massenspekt.)

Ber.: C: 65,60 H: 5,50 N: 16,39

Gef.: C: 64,36 H: 5,38 N: 16,18

1H -NMR (CF_3COOD) δ ppm: 2,75 (s, 6H, N- CH_3); 3,15 (s, 6H, N- CH_3); 3,25 (s, 6H, N- CH_3); 4,05 (s, 2H, C(5,5')-H); 6,35-7,05 (m, 8H, arom.)

Das Dimere 66 wird bei unterschiedlicher Bestrahlungsdauer auch bei Verwendung folgender Substrate erhalten: Mandelsäure, O-Methyl-mandelsäure, N,N'-Dimethylglycin, EDTA, Cyclohexadien.

9.10. 2,4,5-Trioxo-pyrimido-chinoline

9.10.1. Allgemeine Arbeitsvorschrift

0,1 Mol Isatosäureanhydrid und 0,1 Mol Barbitursäure werden im Ölbad bei 180°C bis zur beendigten CO₂-Entwicklung (ca. 3 Std.) erhitzt. Die heiße Schmelze wird mit erwärmten DMF versetzt und 4 Std. rückfließend erhitzt. Das nach dem Erkalten ausfallende Produkt wird im geeigneten Lösungsmittel umkristallisiert.

9.10.1.1. 1,3,10-Trimethyl-2,4,5-trioxo-1,2,3,4-tetrahydro-pyrimido- [4,5-b] -dihydro-chinolin (40a)

0,1 Mol (17,7g) N-Methyl-isatosäureanhydrid und 0,1 Mol (15,6g) Dimethylbarbitursäure werden wie oben angegeben trocken erhitzt. Das Produkt wird mehrfach aus DMF umkristallisiert.
Ausbeute: 78 % d.Th.

Schmp.: 284-286°C

C₁₄H₁₃N₃O₃ (271,3)

Mol.-Masse: 271 (massenspektr.)

Ber.: C: 61,98 H: 4,83 N: 15,49

Gef.: C: 61,86 H: 4,85 N: 15,44

¹H-NMR (CF₃COOD) δ ppm: 3,5(s,3H,N(3)-CH₃); 3,8 (s,3H,N(1)-CH₃); 4,2 (s,3H,N(10)-CH₃); 7,8-8,8 (m,4H,arom.)

IR(KBr): 1620 cm⁻¹(2-CO); 1645 cm⁻¹(4-CO); 1695 cm⁻¹(5-CO)

UV/VIS(CH₃OH): λ max= 300 nm (4.079); 264 nm (4.586);

257 nm (4.608)

9.10.1.2. 3,10-Dimethyl-2,4,5-trioxo-1,2,3,4-tetrahydro-
pyrimido- [4,5-b] -dihydro-chinolin (40b)

0,1 Mol (17,7g) N-Methyl-isatosäureanhydrid und 0,1 Mol (14,2g) Methyl-barbitursäure werden trocken erhitzt und das anfallende Produkt aus Eisessig umkristallisiert.

Ausbeute: 72 % d. Th.

Schmp.: 298°C

$C_{13}H_{11}N_3O_3$ (257,3)

Mol.-Masse: 257 (massenspektr.)

Ber.: C: 60,68 H: 4,31 N: 16,33

Gef.: C: 60,73 H: 4,42 N: 16,28

1H -NMR (CF_3COOD) δ ppm: 3,5 (s, 3H, N(3)- CH_3); 4,25 (s, 3H, N(10)- CH_3); 7,7-8,7 (m, 4H, arom.)

IR(KBr): 1610 cm^{-1} (2-CO); 1655 cm^{-1} (4-CO); 1715 cm^{-1} (5-CO)

9.10.1.3. 1,3-Dimethyl-2,4,5-trioxo-1,2,3,4-tetrahydro-
pyrimido- [4,5-b] -dihydro-chinolin (40c)

0,1 Mol (16,3g) Isatosäureanhydrid und 0,1 Mol (15,6g) Dimethyl-barbitursäure werden 5 Std. trocken erhitzt und mehrmals aus DMF umkristallisiert.

Ausbeute: 81 % d. Th.

Schmp.: 292°C

$C_{13}H_{11}N_3O_3$ (257,3)

Mol.-Masse: 257 (massenspektr.)

Ber.: C: 60,68 H: 4,31 N: 16,33

Gef.: C: 60,61 H: 4,24 N: 16,42

$^1\text{H-NMR}$ (CF_3COOD) δ ppm: 3,35 (s, 3H, N(3)- CH_3); 3,7 (s, 3H, N(1)- CH_3); 7,6-8,35 (m, 4H, arom.)

IR(KBr): 1620 cm^{-1} (2-CO); 1645 cm^{-1} (4-CO); 1700 cm^{-1} (5-CO)

9.10.1.4. 10-Methyl-2,4,5-trioxo-1,2,3,4-tetrahydro-

pyrimido-[4,5-b]-dihydro-chinolin (4Od)

0,1 Mol N-Methyl-isatosäureanhydrid und 0,1 Mol (12,8g)

Barbitursäure werden 5 Std. trocken erhitzt. Unumgesetztes Ausgangsmaterial wird durch mehrmaliges Waschen mit Methanol abgetrennt, die Substanz läßt sich nicht umkristallisieren.

Ausbeute: 52 % d. Th.

Schmp.: oberhalb 350°C

$\text{C}_{12}\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_3$ (243,2)

Mol.-Masse: 243 (massenspektr.)

Ber.: C: 59,28 H: 3,73 N: 17,28

Gef.: C: 58,76 H: 3,50 N: 16,18

$^1\text{H-NMR}$ (CF_3COOD) δ ppm: 4,1 (s, 3H, N(10)- CH_3); 7,6-8,6 (m, 4H, arom.)

IR(KBr): 1625 cm^{-1} (2-CO); 1650 cm^{-1} (4-CO); 1710 cm^{-1} (5-CO)

9.10.1.5. 3-Methyl-2,4,5-trioxo-1,2,3,4-tetrahydro-

pyrimido-[4,5-b]-dihydro-chinolin (4Oe)

0,1 Mol (16,3g) Isatosäureanhydrid und 0,1 Mol (14,2g) Methylbarbitursäure werden 5 Std. trocken erhitzt. Die Substanz

läßt sich ebenfalls nicht umkristallisieren.

Ausbeute: 39 % d. Th.

Schmp.: oberhalb 350°C

$C_{12}H_9N_3O_3$ (243,2)

Mol.-Masse: 243 (massenspektr.)

Ber.: C: 59,26 H: 3,73 N: 17,28

Gef.: C: 57,12 H: 3,51 N: 16,04

9.10.1.6. 2,4,5-Trioxo-1,2,3,4-tetrahydro-pyrimido-

[4,5-b] -dihydro-chinolin (40f)

0,1 Mol (16,3g) Isatosäureanhydrid und 0,1 Mol (12,8g) Barbitursäure werden trocken erhitzt. Das Produkt wird mit Methanol/Äthanol in der Wärme gewaschen, es ist nicht umkristallisierbar.

Ausbeute: 33 % d. Th.

Schmp.: oberhalb 350°C

$C_{11}H_7N_3O_3$ (229,2)

Mol.-Masse: 229 (massenspektr.)

Ber.: C: 57,64 H: 3,08 N: 18,33

Gef.: C: 55,88 H: 2,92 N: 18,11

9.10.2. 5-(5-1,3-Dimethyl-barbituryl)-1,3,10-trimethyl-
2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-pyrimido- [4,5-b] -dihydro-
chinolinylliden (72)

0,01 Mol (2,71g) 40a werden mit 0,01 Mol (1,56g) Dimethyl-barbitursäure in Acetanhydrid/Eisessig (2:1) drei Stunden rückfließend erhitzt. Die violette Lösung wird eingedampft, der Rückstand in wenig Methanol (ca. 5 ml) gelöst, mit 1000 ml Äther versetzt und in den Kühlschrank gestellt. Nach 4 Std. wird die ausgefallene, rot-violette Substanz abgesaugt und getrocknet.

Ausbeute: 88 % d. Th.

Schmp.: 246°C

$C_{20}H_{19}N_5O_5$ (409,4)

Mol.-Masse: 409 (massenspektr.)

Ber.: C: 58,68 H: 4,68 N: 17,11

Gef.: C: 58,74 H: 4,78 N: 17,24

9.10.3. 5-(2-1,3-Dioxo-5,5'-dimethyl-1,2,3,4-tetrahydro-
cyclohexan)-1,3,10-trimethyl-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-
pyrimido- [4,5-b] -dihydro-chinolinylliden (73)

0,01 Mol (2,71g) 40a werden mit 0,01 Mol (1,4g) Dimedon 3 Std. in Acetanhydrid/Eisessig (2:1) rückfließend erhitzt. Die violette Lösung wird eingedampft, der Rückstand in 10 ml

Äthanol gelöst mit 2000 ml Petroläther versetzt und zwei Stunden bei Zimmertemperatur gerührt. Danach wird das ausgefällte, rot-violette Produkt abgesaugt und getrocknet.

Ausbeute: 68 % d. Th.

Schmp.: 233°C

$C_{22}H_{23}N_3O_4$ (393,4)

Mol.-Masse: 393 (massenspektr.)

Ber.: C: 67,17 H: 5,89 N: 10,68

Gef.: C: 67,26 H: 5,74 N: 10,54

10. Literaturverzeichnis

- | | |
|--|--|
| 1) H. Theorell | Biochem. Z.
<u>272</u> ,155(1934) |
| 2) H. Theorell | Biochem. Z.
<u>275</u> ,37(1935) |
| 3) H. Theorell | Biochem. Z.
<u>275</u> ,344(1935) |
| 4) H. Theorell | Biochem. Z.
<u>278</u> ,263(1935) |
| 5) P. Karrer, K. Schöpp,
F. Benz | Helv.Chim.Acta
<u>18</u> ,426(1935) |
| 6) R. Kuhn, T. Wagner-Jauregg | Ber.
<u>66</u> ,1577(1933) |
| 7) R. Kuhn, K. Reinemund,
F. Weygand | Ber.
<u>67</u> ,1460(1934) |
| 8) O. Warburg, W. Christian | Biochem. Z.
<u>266</u> ,377(1933) |
| 9) H.H. Fall, H.G. Petering | J.Am.Chem.Soc.
<u>78</u> ,377(1956) |
| 10) R.R. Adams, C.A. Weisel
H.S. Mosher | J.Am.Chem.Soc.
<u>83</u> ,883(1961) |
| 11) R.D. Faulkner, J.P. Lambooy | J.med.Chem.
<u>6</u> ,292(1963) |
| 12) J.P. Lambooy, H.V. Aposhian | J.Nutr.
<u>47</u> ,539(1952) |

- 13) R. Kuhn, P. Desnuelle,
F. Weygand Chem. Ber.
70,1239(1937)
- 14) F. Weygand, R. Löwenfeld,
E.F. Müller Chem. Ber.
84,101(1951)
- 15) F.E. King,R.M. Acheson J.Chem.Soc.
1946,681
- 16) H. Hippchen Chem.Ber.
80,263(1947)
- 17) F. Kipnis, N. Weiner,
P.E. Spoerri J.Am.Chem.Soc.
69,799(1947)
- 18) A. Burkett J.Am.Chem.Soc.
69,2555(1947)
- 19) R.B. Barlow, H.R. Ing J.Chem.Soc.
1950,713
- 20) J.J. Dombrowski,
J.P. Lambooy Arch.Biochem.Biophys.
152,378(1973)
- 21) V.M. Berezowskii,
L.M. Melnikow Zh.Obschek.Khim.
31,3827(1961)
- 22) F. Müller, P. Hemmerich Helv.Chim.Acta
49,2352(1966)
- 23) Pfizer Chas.& Co Inc. Fr. 1565.368
(Erf. J.M. Goldman) C.A.72,79076(1970)
- 24) H. Fenner Arzneim.Forsch.
20,1815(1970)
- 25) H. Fenner, H.H. Rössler, in'Flavins&Flavoprot.'
H.J. Duchstein, P. Hemmerich 1976,T.P.Singer,ed.Elsevier

- 26) R. Teichmann
Diss. FU. Berlin (1976)
- 27) D.E. O'Brien, L.T. Weinstock,
C. Cheng
J.Heterocycl.Chem.
7,99(1970)
- 28) H. Fenner, P. Michaelis
Arch.Pharm.
305,751(1972)
- 29) P. Hemmerich
Fortschr.Chem.Org.Naturst.
33,451(1976)
- 30) M. Jorns, L. Hersh
J.Biol.Chem.
250,3620(1975)
- 31) L. Hersh, M. Jorns
J.Biol.Chem.
250,8728(1975)
- 32) J. Fisher, R. Spencer,
C. Walsh
Biochemistry
15,1043(1976)
- 33) H. Fenner, R.W. Grauert,
P. Hemmerich
Liebigs Ann.Chem.
im Druck
- 34) T.C. Bruice
Progress in Bioorganic
Chemistry,ed.:E.T.Kaiser
F.J.Kezdy,Verlag WileyN.
1976
- 35) H.J. Duchstein, R.W. Grauert,
G. Blankenhorn, P. Hemmerich,
M. Goldberg, J. Pecht
Febs-Lett.
im Druck
- 36) H.J. Duchstein
Diss. FU. Berlin (1977)
- 37) M. Brüstlein, T.C. Bruice
J.Am.Chem.Soc.
94,6548(1972)
- 38) H.J. Duchstein, W.R. Knappe,
H. Fenner
in Vorbereitung

- 39) J. Fisher, C. Walsh J. Am. Chem. Soc.
96, 4345 (1974)
- 40) R. Burult, G. Darlind, D. Kendell, J. Biol. Chem.
L. Lequesen, S. Mayhew, W. Smith, 249, 4383 (1974)
M. Ludwig
- 41) B. Averill, A. Schönbrunn, J. Biol. Chem.
R. Abeles, L. Weinstock, C. Cheng, 250, 1603 (1975)
J. Fisher, R. Spencer, C. Walsh
- 42) P. Hemmerich, 'Enzymes-Struktur
and Funktion' C. Veeger,
M. Shumann-Jorns j. Drenth, R. A. Vasterboan
ed.: North-Holland,
Amsterdam, 1973, S. 95
- 43) E. J. Land, A. J. Swallow Biochem. Biophys. Acta
162, 237 (1968)
- 44) P. Hemmerich, V. Massey, Nature
G. Weber 213, 728 (1967)
- 45) M. Conrad, H. Reinbach Chem. Ber.
34, 1339 (1901)
- 46) F. E. King, T. J. King, J. Chem. Soc.
G. B. Thompson 55, 21 (1948)
- 47) E. J. Reist, H. Hanlow, J. G. Junga J. Org. Chem.
R. M. Silverstein, B. R. Baker 1960, 25, 1368
- 48) F. Yoneda, Y. Sakuma, R. Ho, J. C. S. Perkin 1
S. Mitsumoto 1976, 1805
- 49) F. Yoneda, Y. Sakuma J. C. S. Chem. Comm.
1976, 203

- 50) P. Hemmerich und M. Janda
Angew.Chem.
88,475(1976)
- 51) G.B. Barlin
J.appl.Chem.
12,141(1962)
- 52) J.S. Driscoll, W. Pfeleiderer,
E.C. Taylor
J.Org.Chem.
26,5230(1961)
- 53) F. Kröhnke
Chem.Ber.
83,291(1950)
- 54) H. Emmert, F. Lauritzen
Ber.
71,240(1938)
- 55) K.H. Dudley, P. Hemmerich
J.org.Chem.
32,3049(1967)
- 56) S. Ghisla, P. Hemmerich,
U. Hartmann, F. Müller
Liebigs Ann.Chem.
1973,1388
- 57) M. Hesse
Fortschr.Chem.Forsch.
8,608(1967)
- 58) P. Brown, C.L. Hornbeck,
J.R. Cronin
Org.Mass Spektrometry
6,1383(1972)
- 59) M. Jorns, L. Hersh
J.Am.Chem.Soc.
96,4012(1975)
- 60) P. Hemmerich, K.H. Dudley,
A. Ehrenberg, F. Müller
Helv.Chim.Acta
47,1354(1964)
- 61) Franck-Condon-Prinzip
s. Lehrb.
- 62) K.H. Dudley, P. Hemmerich
Helv.Chim.Acta
50,355(1967)

- 63) F. Müller, V. Massey J.Biol.Chem.
244,4007(1969)
- 64) V. Massey J.Biol.Chem.
244,3999(1969)
- 65) V. Massey persönl. Mitteilung
- 66) M. Shuman-Jorns, L. Hersh J.Biol.Chem.
251,4872(1976)
- 67) Y. Yokoe, T.C. Bruice J.Am.Chem.Soc.
97,450(1975)
- 68) B. Curtis, F. Müller, J.Biol.Chem.
S.G. Mayhew 243,1329(1968)
- 69) R.G. Pearson, J. Songstad J.Am.Chem.Soc.
89,1827(1967)
- 70) J. Clark, B. Parvici J.Chem.Soc.Perkin 1
1976,131
- 71) J. Clark, B. Parvici J.Chem.Soc.Perkin 1
1974,308
- 72) D.P. Spalding,E.C. Chaping, J.org.Chem.
H.S. Mosher 19,357(1954)
- 73) F. Müller,V. Massey,C.Heizmann, Europ.J.Biochem.
P.Hemmerich,J.Lhoste,D.C.Gould 9,392(1969)
- 74) D. Porter, J. Voet, J.Biol.Chem.
H. Bright 248,4400(1973)
- 75) R. Spencer, J. Fisher Biochem.
C. Walsh 15,1043(1976)

- 76) R. Spencer, J. Fisher,
C. Walsh
77) F. Kröhnke, K. Ellegast
78) F. Kröhnke, J. Vogt
79) H.L. Honig
80) Janzen, Picket, Happ,
de Angelis
81) Happ, Janzen
82) Ehrlich, Benda
83) Kaufmann, Albertini
84) Chupakhin, Charushin,
Postowski
85) P. Hemmerich
86) W.R. Knappe
87) P. Hemmerich, A. Wessiak
- Biochem.
15,1054(1976)
Liebigs Ann.Chem.
600,176(1956)
Liebigs Ann.Chem.
600,211(1956)
Diplomarb.Gießen(1956)
J.org.Chem.
35,88(1970)
J.org.Chem.
35,96(1970)
Ber.
46,1931(1913)
Ber.
42,1999(1909)
Zh.Org.Khim.
12,1553(1976)
'Fortschritte der Chemie
organischer Naturstoffe'
Band 33,H.Griesebach ed.
Springer Verl. 1976
Persönl.Mitteilung
(Dezember 1976)
'Flavins & Flavoproteins'
ed.: T.P. Singer
Verl.Elsevier,Amsterdam
1976,9

- 88) T.C. Bruice in 'Enzymes', 3. Ausg.
2, 217 (1970)
- 89) H. Fenner, R. Grauert, in Vorbereitung
P. Hemmerich, M. Michel
- 90) R. Grauert Diss. FU. Berlin (1977)
- 91) E.L. Martin Org. Reaktionen
1, 155 (1959)
- 92) H. Fenner Diss. FU. Berlin (1967)

LEBENS LAUF

05-03-47	geboren in Etzen als Sohn von Hermann Bauch und seiner Ehefrau Anita geb. Brinkmann
1954-1958	Volksschule in Lübeck-Siems
1958-1965	Molkte-Gymnasium in Krefeld
13-06-1967	Abitur am Staatl. Gymnasium in Bad Schwartau
1967-1969	Apotheken Praktikum
04-07-1969	Pharmazeutische Vorprüfung
SS 1970- WS 1972/73	Studium der Pharmazie an der Freien Universität Berlin
26-04-1973	Pharmazeutisches Staatsexam.
Januar 1974	Beginn der vorlieg. Diss.
01-04-1974	Wissenschaftl. Teilzeitassist.
22-07-1976	Heirat mit Adelheid Wegmann
07-08-1976	Geburt meiner Tochter Nina
01-10-1976	Wissenschaftl. Assistent

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren:

Asmus, Fenner, Frömming, Hänsel, Langhammer, Möhrle, Rehse,
Rimpler, Sarry, Wenzel.

difo-druck · 8600 bamberg
untere königstraße 30